

Raakaruokinnan vaikutus tautia aiheuttavien bakteerien esiintyvyyteen kissan ulosteessa

Tiina Heikkilä

Eläinlääketieteen lisensiaattitutkielma

Elintarvikehygienian ja ympäristöterveyden osasto

Eläinlääketieteellinen tiedekunta

Helsingin yliopisto 2019



Tiedekunta - Fakultet - Faculty Eläinlääketieteellinen tiedekunta		Osasto - Avdelning – Department Elintarvike- ja ympäristöhygienian osasto
Tekijä - Författare - Author Tiina Heikkilä		
Työn nimi - Arbetets titel - Title Raakaruokinnan vaikutus tautia aiheuttavien bakteerien esiintyvyyteen kissan ulosteessa		
Oppiaine - Läroämne - Subject Lihantarkastus ja teurastamohygenia		
Työn laji - Arbetets art - Level Lisensiaatintutkimus	Aika - Datum - Month and year 04/2019	Sivumäärä - Sidoantal - Number of pages 64
<p>Tiivistelmä - Referat – Abstract</p> <p>Lisensiaatintutkimani sisältää kirjallisuuskatsauksen kissojen raakaruokintaan liittyen ja alkuperäistutkimuksen. Tutkimuksessa pyrittiin selvittämään ihmisille tavallisimpien mahasuolitulehduksia aiheuttavien bakteerien esiintyvyyttä kissoille soveltuvassa raakaruokassa. Tämän lisäksi tutkittiin kahden raakaruokaa syövän kissan ulosteita tavoitteena selvittää erittyvätkö mahdollisesti ruoassa esiintyvät tautia aiheuttavat bakteerit kissojen ulosteeseen. Aihe valittiin, koska lemmikkien raakaruokintaa ei ole vielä kovin paljon Suomessa tutkittu, varsinkaan kissojen kohdalla. Lemmikkien raakaruokan mikrobiologista laatua on tutkittu ulkomailla, missä suurin huoli on tavallisesti ollut salmonella. Suomalaisessa raakassa lihassa salmonellan esiintyminen on kuitenkin erittäin vähäistä. Suomessa tavallisimmat ihmisille tautia aiheuttavat elintarvikevälikkeiset bakteerit ovat <i>Campylobacter</i> spp., <i>Yersinia enterocolitica</i>, <i>Y. pseudotuberculosis</i>, shiga-toksiinia tuottava <i>Escherichia coli</i> eli STEC ja salmonella.</p> <p>Hypoteeseja oli kolme erillistä. Ensimmäisen mukaan oletettiin, että lemmikkien raakaruokasta löytyisi jonkin verran tautia aiheuttavia bakteereita. Toisen perusteella odotettiin yleisimpien löytöjen olevan <i>Y. enterocolitica</i> ja kampylobakteerit. Kolmas hypoteesi oli, että sisäkissan ulosteesta ei juuri löytyisi tautia aiheuttavia bakteereita.</p> <p>Tutkimuksen aikana kerättiin vuoden aikana 48 raakaruokänäytettä ja 73 ulostenäytettä. Ulostenäytteitä kerättiin kahdelta eri kissalta, joista toiselta koko tutkimuksen ajan ja toiselta vain viimeisen puolen vuoden ajan. Näytteet sekoitettiin puskuroituun peptoniveteen ja viljeltiin selektiivisille agarille. Peptoniveseokset inkuboitiin yön ylitse +37 °C:ssa. Inkuboiduista seoksista tehtiin säilytys 20 % glyserolin kanssa -70 °C ja PCR-ajoa varten DNA-eristys ZR Fecal DNA MiniPrep™ -menetelmää (Zymo Research, USA) käyttäen. Peptoniveseokset säilöttiin tutkimuksen ajan 4 °C:ssa. PCR-positiiviset näytteet viljeltiin uudelleen selektiiviselle maljoille esirikastetuista seoksista.</p> <p>Tutkituista ruokänäytteistä 42 % sisälsi jotain tutkittua tautia aiheuttavaa bakteeria. Ulostenäytteistä 84 % sisälsi jotain tutkittua bakteeria PCR-tulosten perusteella. Ulostenäytteistä yhteensä 74% oli kampylobakteeriposiitivisia, vaikka ruokänäytteet eivät olleet. Ruokänäytteistä saadut PCR-positiiviset näytteet eivät kasvaneet agarmaljoilla lainkaan. Ulostenäytteistä kaksi PCR-positiivista <i>Y. enterocolitica</i> löydöstä kasvoi myös agarmaljoilla. Nämä olivat biotyyppejä 4 ja kaupallisella vasta-aineella tehdyllä testillä serotyyppiä O:3. Kummankin kissanulosteesta eristettiin <i>Campylobacter helveticus</i>.</p> <p>Tulosten perusteella voidaan vetää johtopäätös, että raakaruokinnassa on riskejä lemmikkien ja ihmisten terveydelle. Riskit ovat suuret erityisesti ihmisille, joiden immuunijärjestelmän toiminta ei ole normaalia. Hypoteesit olivat osittain oikein, mutta esimerkiksi ulosteessa esiintyvien tautia aiheuttavien kampylobakteerien korkea esiintyvyys oli yllätys. Tutkimuksen toinen tavoite, mikä oli selvittää siirtyvätkö ruoan patogeenit kissojen ulosteeseen, ei välttämättä onnistunut näytteenottosuunnitelman takia. Näytteitä olisi pitänyt ottaa pidemmän aikaa raakaruokan syöttämisen jälkeen ja tutkia kissat etukäteen, etteivät ne eritä mitään bakteeria valmiiksi ulosteeseensa.</p>		
Avainsanat - Nyckelord - Keywords raakaruoka, kissa, RMBD, raw food, <i>Salmonella</i> , <i>Yersinia</i> , <i>Campylobacter</i> , STEC		
Säilytyspaikka - Förvaringställe - Where deposited HELDA – Helsingin yliopiston digitaalinen arkisto		
Työn johtaja (tiedekunnan professori tai dosentti) ja ohjaaja(t) - Instruktor och ledare - Director and Supervisor(s) Professori Maria Fredriksson-Ahomaa (johtaja ja ohjaaja)		

Sisällysluettelo

1 Johdanto.....	1
2 Kirjallisuuskatsaus.....	2
2.1 Mitä on raakaruokinta ja millaisia riskejä siinä on?	2
2.2 Miksi ihmiset valitsevat raakaruokinnan?.....	4
2.3 Raakaruokinnan yleisyys	5
2.4 <i>Campylobacter</i> spp.....	5
2.4.1 <i>Kampylobakteeri</i> -infektion oireet ihmisillä ja kissoilla	6
2.4.2 Yleisimmät <i>kampylobakteerien</i> tartuntalähteet.....	7
2.5 <i>Salmonella</i> spp.....	10
2.5.1 <i>Salmonelloosin</i> oireet ihmisillä ja kissoilla	10
2.5.2 Yleisimmät tartuntalähteet.....	11
2.6 <i>Yersinia enterocolitica</i> ja <i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	13
2.6.1 <i>Yersinioosin</i> aiheuttamat oireet ihmisillä ja kissoilla	14
2.6.2 <i>Y. enterocolitica</i> ja <i>Y. pseudotuberculosis</i> yleisimmät tartuntalähteet	15
2.7 Shiga-toksiinia tuottava <i>Escherichia coli</i> eli STEC.....	16
2.7.1 STEC-infektion oireet ihmisillä ja kissoilla.....	17
2.7.2 Tavallisimmat STEC-infektion tartuntalähteet.....	18
2.8 <i>Kampylobakterioosi</i> , <i>salmonelloosi</i> , <i>yersinioosi</i> ja STEC Suomessa	18
2.9 Muut infektoriskit riskit raakaruokinnassa.....	19
2.10 Muita tunnettuja raakaruokinnan riskejä.....	21
2.11 Raakaruokintaan liittyvien riskien hallinta	22
3. Tutkimuksen tavoite	25
4. Materiaalit ja menetelmät	26
4.1 Ruoka- ja ulostenäytteet.....	26
4.2 Näytteiden käsittely ja bakteerien osoitus näytteistä.....	28
4.2.1 Bakteeriviljelyt ja käytetyt agar-tyypit.....	29

4.2.2 DNA:n eristys	31
4.2.3 Reaaliaikainen multiplex-PCR	32
4.3 Bakteerien eristys.....	34
5. Tulokset.....	37
6. Pohdinta.....	40
7. Kiitokset	47
Kirjallisuusluettelo	48

1 JOHDANTO

Kissa on Suomessa yleinen lemmikkieläin. *Toksoplasma gondii* -loinen on liitetty zoonoottiseksi riskiksi kissojen kanssa eläessä, mutta riskejä on mahdollisesti paljon muitakin. Kissa voi toimia ihmisille yleisien tautia aiheuttavien elintarvikeperäisien bakteerien zoonoottisena lähteenä, varsinkin syödessään raakaa lihaa. Euroopassa eniten tautitapauksia aiheuttanut zoonoottinen bakteeri oli vuonna 2017 *Campylobacter* spp. (EFSA 2018a). Seuraavaksi eniten tautitapauksia aiheuttivat *Salmonella enterica*, *Yersinia* spp. ja shiga-toksiinia tuottava *Escherichia coli* eli STEC (EFSA 2018a). Nämä neljä taudinaiheuttajaa ovat Suomessakin aiheuttaneet tautitapauksia (THL 2018a). Merkittävänä erona on kotimaisten salmonelloosien vähyys Suomessa verrattuna muuhun Eurooppaan. Kissojen aiheuttamasta zoonoottisesta riskistä on tällä hetkellä vain vähän tutkimustietoa näiden neljän bakteerin osalta, sillä suurin osa tutkimuksista on keskittynyt koiriin.

Lisensiaatintyössäni tutkin kampylobakteerien, salmonellan, *Yersinia enterocolitica*- ja *Yersinia pseudotuberculosis* -bakteerien, sekä shiga-toksiinia tuottavan *Escherichia coli*-bakteerin (STEC) esiintyvyyttä eläimille markkinoitavissa pakastettuina myytävissä raakaruuissa ja ihmisille myytävissä pakastamattomissa raakalihatuotteissa. Tämän lisäksi tutkimuksessa otettiin näytteet kissojen ulosteesta näiden syötyä kyseistä tutkittavaa lihanäytettä noin vuorokauden ajan. Näytteitä kertyi yhteensä 48 kpl erilaisista ruuista ja 73 kpl kahden eri kissan ulosteesta. Kissoista toinen oli mukana koko tutkimuksen ajan ja toinen vain osan ajasta. Bakteereita etsittiin viljelemällä näytteet selektiivisille agarille ennen ja jälkeen epäselektiivisen esirikastuksen. Kaikki näytteet tutkittiin myös reaaliaikaisella PCR-menetelmällä. Hypoteesina oli, että lihasta löytyisi jonkin verran zoonoottisia bakteereita. Toisena hypoteesina oli, että tavallisimmat löydökset olisivat kampylobakteereita ja *Y. enterocolitica*-bakteereita. Kolmas hypoteesi oli, ettei sisäkissojen ulosteesta juuri löytyisi patogeenisia bakteereita.

Tavoitteena oli selvittää siirtyisikö ruoasta mahdollisesti löytyvät bakteerit kissan ulosteeseen.

Kirjallisuuskatsauksen ensimmäisessä osuudessa perehdyn kissojen raakaruokintaan yleisellä tasolla ja sen yleisyyteen tutkimustiedon pohjalta. Toinen osuus käsittelee raakaruokinnan tunnettuja riskejä eli näiden neljän yleisimmän bakteerin tartuntalähteitä, niiden aiheuttamia oireita ihmisillä ja kissoilla, sekä niiden esiintyvyyttä Suomessa. Viimeisenä osuutena käsittelen tapoja hallita riskejä raakaruokaa kissoille tarjotessa.

Raakaruokinnan muodostamaa riskiä arvioidessa on bakteerien esiintyvyyden ohella otettava huomioon tapamme pitää kissoja. Sisäkissat asuvat omistajiensa kanssa samassa huoneistossa ja ulostavat pääsääntöisesti kissanvessaan, jossa voi olla täytteenä esimerkiksi kissanhiekkaa tai pellettejä. Kissanvessaa siivotessaan ihminen on läheisessä kontaktissa kissansa ulosteisiin päivittäin.

2 KIRJALLISUUSKATSAUS

2.1 Mitä on raakaruokinta ja millaisia riskejä siinä on?

Raakaruokinta, esim. BARF ("bones and raw food", nykyisin tavallisemmin "biologically appropriate raw food"), on noussut 2000-luvulla ruokintatrendiksi lemmikeille (kirjassa Billingham 2001). Raakaruokinnassa eläimen ravinto koostuu pääosin kypsentämättömistä eläinperäisistä raaka-aineista (katsauksessa Freeman ym. 2013a). Raaka-aineena voi olla esimerkiksi luustolihakset, sisäelimet tai luut (jauhettuna tai kokonaisena) (katsauksessa Freeman ym. 2013a). Nykyään on paljon erilaisia kaupallisia raakaravintovalmisteita lemmikeille, osa on valmistajien mukaan täysravintoja niin kissoille kuin koirille. Osa omistajista koostaa raakaruokan itse ja tällainen ruoka voi käytännössä sisältää mitä tahansa,

sillä yleensä ohjeet raakaruonan koostamiseen perustuvat useammin mielipiteeseen kuin vertaisarvioituihin tutkimuksiin (katsauksessa Freeman ym. 2013a). Tutkimustietoa, varsinkaan pitkäaikaistutkimuksia, hyödyistä tai haitoista ei juuri ole olemassa (katsauksessa Freeman ym. 2013a).

Monet lemmikeille markkinoidut herkut ovat myös raakaruokaa. Esimerkiksi raakakuivatut (kuumentamattomat) porsaen korvat ja henkitorvet muodostavat yhtä lailla mikrobiologisen riskin kuten varsinaiseksi raakaruoksi mielletty ruoka (Adley ym. 2011, katsauksessa Freeman ym. 2013a).

Raakaruokintaan on liitetty useita riskejä ihmisten ja eläinten terveydelle. Useimmat eläinlääkärijärjestöt ja viranomaistahot ovatkin ottaneet kriittisen kannan raakaruokintaan. Yhdysvaltain elintarvike- ja lääkevirasto varoittaa lemmikkien omistajia raakaruokinnan vaaroista, varsinkin salmonelloosin ja listerioosin takia (FDA 2018a). AAHA eli *American Animal Hospital Association* on linjannut raakaruokinnan olevan suuri riski ihmisten ja eläinten terveydelle (Cima 2012). *Canadian Veterinary Medical Association* kehottaa eläinlääkäreitä valistamaan lemmikkien omistajia raakaruokinnan tuomista riskeistä ihmisille ja eläimille (CVMA 2018). Suomen Eläinlääkäriliitto on julkaissut raakaruokinnasta tiedotteen, jossa kehoitetaan ihmisiä tiedostamaan raakaruokinnan aiheuttamat riskit terveydelle, vaikka kotimainen liha on suhteellisen turvallista (SELL 2018).

Eniten vertaisarvioitua tutkimusta löytyy raakaruokinnan mikrobiologisista riskeistä (katsauksessa Freeman ym. 2013a). Kissat voivat olla oireettomia patogeenisten mikrobien kantajia. Kissan uloste voi olla täysin normaalia ulkoisesti ja silti sisältää ihmiselle patogeenisia bakteereita (Spain ym. 2001). Koirilla on todettu sama ilmiö, kliinisesti terveiden koirien ulosteesta on löytynyt esimerkiksi *Y. enterocolitica* -bakteeria (Fredriksson-Ahomaa ym. 2001).

Lemmikkien omistajat eivät viranomaistahojen varoittelusta huolimatta usein hahmota raakaruokinnan potentiaalisia terveysriskejä (katsauksessa Stull ym. 2015). Yhdysvalloissa on havaittu, että lääkärit harvoin kyselevät potilailtaan lemmikkikontakteista, edes riskiryhmiin kuuluvilta (katsauksessa Stull ym. 2015). Riskiryhmiin luetaan ihmiset, joiden immuunijärjestelmä on tavallista heikempi (katsauksessa Angulo ym. 1995). Tällaisia ihmisiä ovat esimerkiksi diabeetikot, kroonista munuaisten vajaatoimintaa sairastavat, syöpäpotilaat (erityisesti kemoterapian aikana), pikkulapset, vanhukset, raskaana olevat ja alkoholistit (katsauksessa Angulo ym. 1995, katsauksessa Stull ym. 2015). Tutkimuksissa on kuitenkin todettu, että lemmikin omistaminen tuo mukanaan useita positiivisia vaikutuksia esimerkiksi omistajansa mielenterveyteen. Tämän takia riskiryhmiin kuuluvien tulisi ensisijaisesti ottaa uutena lemmikkinä talouteensa vain terveitä eläimiä ja mieluiten aikuisia yksilöitä, sekä välttää raakaruokintaa (katsauksessa Angulo ym. 1995, katsauksessa Stull ym. 2013).

2.2 Miksi ihmiset valitsevat raakaruokinnan?

Raakaruokinta mielletään luonnollisemmaksi ja sen ajatellaan olevan lemmikille sopivampaa ravintoa verrattuna teollisesti valmistettuihin eläinten purkki- ja kuivaruuokiin (kirjassa Billingham 2001). Sopivamman ravinnon ajatellaan parantavan lemmikin turkin laatua, terveyttä ja immuunipuolustusta sekä pidentävän elinikää (kirjassa Billingham 2001). Näiden väitteiden paikkansapitävyyttä ei kuitenkaan ole tutkimuksissa pystytty luotettavasti osoittamaan (katsauksessa Finley ym. 2006). Raakaruokinnan ravintoarvojen vaikutuksesta eläinten terveyteen ei ole kovin paljoa tutkimusta ja useimmat tutkimukset ovat huonolaatuisia (katsauksessa Freeman ym. 2013a). Ajatus siitä, että luonnonmukainen ruokavalio olisi ehdottomasti lemmikille paras, voi olla virheellinen. Villinä luonnossa elävien eläinten elinikä on tyypillisesti lyhyempi kuin lemmikkinä elävien, jolloin luonnossa menestyksekkäs ruokavalio ei välttämättä ole se paras vaihtoehto pitkään elävälle lemmikille (katsauksessa Freeman ym. 2013a).

2.3 Raakaruokinnan yleisyys

Raakaruokinnan yleisyydestä löytyy jonkin verran tutkimustietoa. Yhdysvalloissa ja Australiassa vuonna 2008 tehtyyn puhelinkyselyyn oli vastannut 469 kissanomistajaa, näistä raakaa lihaa tai luita osana kissansa ruokavaliota syötti 43 kissanomistajaa eli 10 % kyselyyn vastanneista (Laflamme ym. 2008). Vuonna 2013 tehtyyn kyselytutkimukseen vastasi 791 koiranomistajaa Yhdysvalloista ja kuudesta muusta maasta, ja näistä 85 koiranomistajaa (11 %) syötti koiralleen kotitekoista tai kaupallista raakaruokaa (Freeman ym. 2013b). Kanadassa vuonna 2013 tehdyssä kyselytutkimuksessa selvitettiin lemmikkieläinten zoonoottista riskiä ja yhtenä osana oli lemmikkien ruokavalio (Stull ym. 2013). Tutkimukseen vastasi 274 koiranomistajaa ja näistä raakoja herkkupaloja tarjosi koiralleen 22 % ja raakaa lihaa osana ruokavaliota 4 %:ssa. Kissanomistajia kyselyyn vastasi 191 kpl, joista raakaa lihaa kissalleen tarjosi 3 % vastaajista (Stull ym. 2013). Kanadassa tutkittiin sairaaloissa vierailevien terapiakoirien ruokavalioita vuonna 2005. Tutkimuksessa oli mukana 194 koiraa, joita seurattiin seitsemän kuukauden ajan. Tänä aikana 40 (21 %) koiraa sai jossain vaiheessa raakaruokaa ja 23 (12 %) koiraa söi koko tutkimuksen ajan raakaruokaa (Lefebvre ym. 2008).

2.4 *Campylobacter* spp.

Kampylobakteerit ovat gram-negatiivisia ja hieman kaarevia sauvabakteereita (katsauksessa Bolton 2015). Ne ovat mikroaerofiilisiä bakteereita, jotka elävät useiden lintujen ja nisäkkäiden ruoansulatuskanavassa kommensaaleina eli osana luontaista suoliston mikrobistoa (katsauksessa Bolton 2015). Kampylobakteereita on useita kymmeniä lajeja ja vain osa niistä on patogeenisiä ihmisille ja lemmikeille (kirjassa Quinn ym. 2011). Patogeeniset lajit aiheuttavat enimmäkseen ruoansulatuskanavan ja lisääntymiselimistön sairauksia (kirjassa Quinn ym. 2011). Yleisimmin oireita ihmisellä aiheuttavat lämpökestoiset lajit *C. jejuni*, *C. coli* ja *C. lari* (katsauksessa Moore ym. 2005, katsauksessa Humphrey ym. 2007). Lemmikkieläimille yleisimmin tautia aiheuttavat lajit ovat *C. jejuni* ja *C. upsaliensis* (Acke ym. 2009). Tavallisimmin kissojen ulosteesta löytyy lämpökestoisia lajeja *C. helveticus* ja *C. upsaliensis* ja ne molemmat voivat esiintyä ulosteessa ilman klinisiä oireita (Shen ym. 2001, Wieland ym. 2005). Eräässä tutkimuksessa havaittiin, että

C. helveticus-bakteeria löytyi ainoastaan kissojen ulosteesta. Muista kotieläimistä, villeistä linnuista, ihmisistä tai broilerin lihasta sitä ei havaittu (Workman ym. 2005). Toisessa tutkimuksessa vertailtiin koirien ja kissojen erittämiä kampylobakteereita. Tässä tutkimuksessa ainoat *C. helveticus*-bakteerilöydökset olivat kissojen ulosteesta ja ilman mitään näkyviä oireita (Acke ym. 2009). *C. helveticus* on löydetty myös koirilta, mutta huomattavasti pienemmällä esiintyvyydellä kuin kissoilla (Bojanic ym. 2017). Useimmissa tutkimuksissa on kuitenkin raportoitu vain kampylobakteerilöydökset *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* tai *C. upsaliensis*. Usein muut lajit, mukaan lukien *C. helveticus*, on niputettu kategoriaan *Campylobacter* spp. Joissain tutkimuksissa ei ole eroteltu *C. upsaliensis*- ja *C. helveticus*-bakteereita toisistaan (Wieland ym. 2005).

2.4.1 Kampylobakteeri-infektion oireet ihmisillä ja kissoilla

Kampylobakteerit aiheuttavat enimmäkseen suolistotulehduksia tai lisääntymiselimistön sairauksia esimerkiksi abortteja (kirjassa Quinn ym. 2011). Taulukossa 1 on esitetty tyypillisimmät oireet ihmisillä ja kissoilla neljän tavallisimmin ihmiselle ja kissalle tautia aiheuttavien kampylobakteerien osalta.

Oirekuva on lämpökestoisilla kampylobakteereilla hyvin samankaltainen sekä ihmisellä, että kissalla (taulukko 1). Toisaalta kissoista on tehty vähän tutkimusta ja useimmiten kissojen on kuvattu olevan kliinisesti terveitä, vaikka ne erittäisivät kampylobakteereita ulosteeseensa (Shen ym. 2001). *C. helveticus*-bakteerin, joka on kissojen ulosteesta tavallisimmin löytyvä kampylobakteeri *C. upsaliensis*-bakteerin ohella, on havaittu aiheuttavan ihmisille toisinaan enteriittioireita eli suoliston tulehduksia ja kissat voivat olla oireettomia tai sairastua enteriittiin (katsauksessa Acke 2018).

Taulukko 1. Yleisimmin tautia aiheuttavien kampylobakteerien oireet.

Bakteeri	Oireet kissalla	Oireet ihmisellä	Lähde
<i>C. jejuni</i>	Oireeton, enteriitti, abortit ^b , bakteremia ^a , Guillain-Barrén oireyhtymä ^{a, c} kolekystiitti ^a	Enteriitti, abortit, bakteremia, Guillain- Barrén oireyhtymä ^c , IBD, meningiitti, myokardiitti, niveltulehdus, virtsatietulehdus	(Garcia Rodriguez ym. 2006, katsauksessa Dasti ym. 2010, kirjassa Fox & Greene 2011, katsauksessa Acke 2018, Martinez- Anton ym. 2018)
<i>C. coli</i>	Oireeton, enteriitti, abortit ^b	Enteriitti, abortit, bakteremia	(kirjassa Fox & Greene 2011, kirjassa Nietfeld 2013)
<i>C. lari</i>	Oireeton, enteriitti, suun tulehduksia ^a	Enteriitti, bakteremia	(kirjassa Fox & Greene 2011, kirjassa Nietfeld 2013, katsauksessa Acke 2018)
<i>C. upsaliensis</i>	Oireeton, enteriitti, Guillain- Barrén oireyhtymä ^{a, c}	Enteriitti, abortti/plasentiitti, paiseet	(Patton ym. 1989, Gaudreau & Lamothe 1992, Gurgan & Diker 1994, Martinez- Anton ym. 2018)

a) koiralla todettu oirekuva

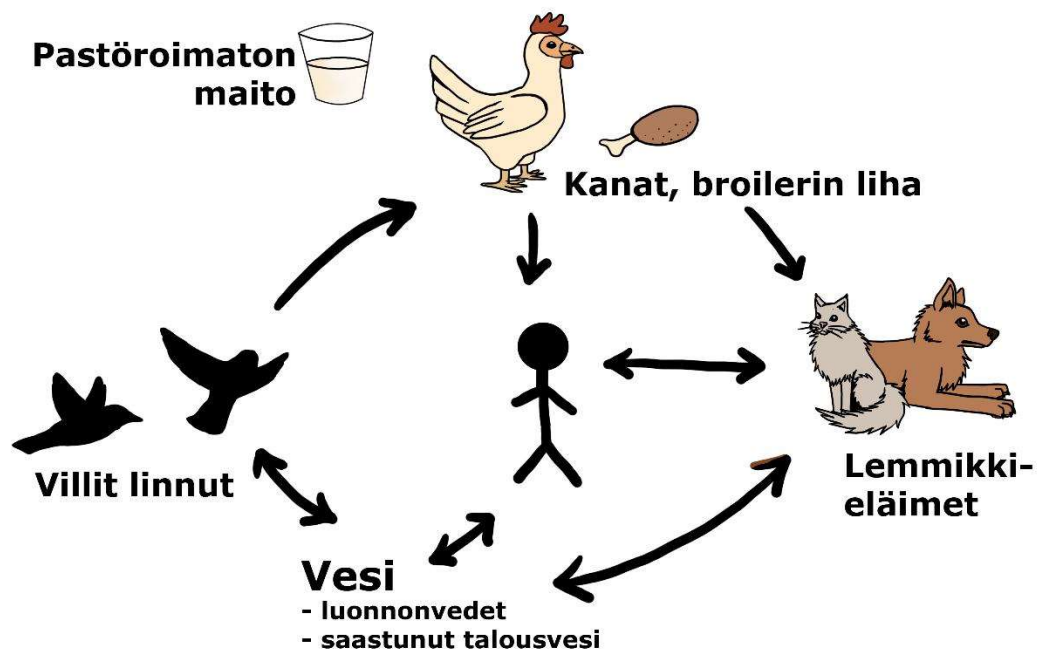
b) yleisesti eläimillä kuvattu oirekuva

c) Guillain-Barrén oireyhtymä (akuutti polyradikuliitti) eli hermojuuritulehdus (Duodecim 2019)

2.4.2 Yleisimmät kampylobakteerien tartuntalähteet

Tavallisin elintarvikeperäinen tartuntalähde kampylobakteereille on saastunut broilerinliha (katsauksessa Humphrey ym. 2007). Saastuneen talousveden tiedetään aiheuttaneen laajoja kampylobakteeriepidemioita, joissa sairastuneiden lukumäärä epidemiaa kohden on suuri (Taylor ym. 2013). Siipikarjan lihan ohella maitotuotteet ovat olleet Yhdysvalloissa tehdyn tutkimuksen mukaan merkittävä tartunnan lähde (Taylor ym. 2013). Kuitenkin Ruotsissa tehdyssä tapaus-verrokkitutkimuksessa havaittiin erityisesti pastöroimattomien maitotuotteiden

olevan riski (Studahl & Andersson 2000). Kissan omistaminen on todettu olevan potentiaalinen riskitekijä sekä *C. jejuni*- että *C. coli* -infektioon elintarvikeperäisten riskien ohella (Doorduyn ym. 2010). Kuvassa 1 on esitetty ihmisten kampylobakteeritartuntojen tavallisimmat tartuntalähteet. Lemmikkien on osoitettu voivan tartuttaa kampylobakteerin ihmiseen. Alankomaissa vuonna 2001 todettiin täysin sama genotyyppi *C. jejuni*-bakteerista sepsiksen takia sairaalahoitoon joutuneesta 3-viikkoisen vauvan verestä ja perheeseen kuusi päivää ennen lapsen sairaalaan joutumista saapuneen koiranpennun ulosteesta. Koiranpentu sairastui vakavaan ripuliin noin viikko lapsen sairaalaan joutumisen jälkeen. Koiranpennun emä testattiin kampylobakteerinegatiiviseksi, mutta pennun kaikki neljä sisarusta olivat infektoituneet samalla genotyypillä. Sisaruksista kolme eritti *C. jejuni*-bakteeria ulosteeseensa (Wolfs ym. 2001).



Kuva 1. Tavallisimmat kampylobakteerien tartuntalähteet (Studahl & Andersson 2000, Taylor ym. 2013). Kuva: Tiina Heikkilä

Lemmikkieläinten riskejä saada kampylobakteeritartunta on tutkittu jonkin verran. Norjalaisessa tutkimuksessa tutkittiin 301 ulostenäytettä terveiltä kissoilta ja 31 ripuloivilta. Taustatietoja analysoitaessa ei saatu selville altistavia tekijöitä, ainoa esille noussut mahdollinen altistava tekijä oli alle vuoden ikä (Sandberg ym. 2002). Tutkituista näytteistä 59 oli positiivisia, ja näistä 38 näytettä oli kerätty alle vuoden ikäisiltä kissoilta (Sandberg ym. 2002). Koirilla on havaittu tutkimuksissa, että nuoret yksilöt erittävät kampylobakteeria ulosteeseen useammin kuin aikuiset (Acke ym. 2006, Acke ym. 2009). Kissoilla yhtä selkeää tilastollista yhteyttä ei ole useimmissa esiintyvyytutkimuksissa juuri kuitenkaan havaittu (Queen ym. 2012, Bojanic ym. 2017). On kohtalaisen tavallista, että kissa erittää kampylobakteeria, mutta ei oireile (Burnens ym. 1992, Shen ym. 2001, Queen ym. 2012). Kampylobakteerien erittämisen esiintyvyyttä on tutkittu ja esiintyvyys on vaihdellut suuresti tutkimuksesta toiseen (taulukko 2). Kuitenkaan useimmissa tutkimuksissa ei ole löydetty selkeää trendiä esiintyvyyden ja kissojen taustatietojen välillä. Irlannissa tehtyjen tutkimusten perusteella on mahdollista, että löytöeläintaloissa elävät kissat erittävät kampylobakteeria ulosteeseensa useammin kuin lemmikkinä elävät (Acke ym. 2006, Acke ym. 2009).

Vapaana ulkona saalistavan kissan riski saada kampylobakteeri-infektio on sisäkissaa korkeampi. Luonnonvaraisissa linnuissa kampylobakteerien esiintyvyys on korkea ja luonnonvesissä kampylobakteeri on melko tavallinen löydös (Huang ym. 2015, Kaakoush ym. 2015). Sisäkissan tai vain valvottuna ulkoilevan kissan, joka syö kuumennuskäsiteltyä teollista kissanruokaa, riski saada kampylobakteeri-infektio on tältä osin merkittävästi pienempi. Raakaruokinta, erityisesti siipikarjan lihalla, on kirjallisuuden perusteella riski kampylobakteeri-infektioille (Studahl & Andersson 2000, Humphrey ym. 2007).

Taulukko 2. *Kampylobakteerien esiintyvyys kissojen ulosteessa eri tutkimuksissa*

Esiintyvyys	Tutkittujen kissojen lkm	Maa	Lähde
14,4 %	195	Australia	(Baker ym. 1999)
6,4 %	344	Itävalta	(Poelzler ym. 2018)
26,0 %	35	Iran	(Torkan ym. 2018)
69,0 %	58	Irlanti ^{a)}	(Acke ym. 2006)
42,9 %	35	Irlanti ^{b)}	(Acke ym. 2009)
17,8 %	332	Norja	(Sandberg ym. 2002)
23,7 %	232	Saksa	(Burnens ym. 1992)
41,9 %	596	Sveitsi	(Wieland ym. 2005)
5,0 %	42	Tanska	(Hald & Madsen 1997)
16,0 %	110	Uusi-Seelanti	(Bojanic ym. 2017)
13,2 %	273	Yhdysvallat	(Queen ym. 2012)

a) Tutkittu löytöeläintalon kissoja

b) Tutkittu lemmikkikissoja

2.5 *Salmonella* spp.

Salmonellat ovat gram-negatiivisia ja itiöttömiä sauvabakteereita (kirjassa Fox & Greene 2011). Lajiluokittelu on muuttunut vuosien saatossa, mutta tällä hetkellä maailman terveysjärjestön käyttämä luokittelu on, että kyseessä on kaksi lajia *Salmonella enterica* ja *Salmonella bongori* (WHO 2018a). Näistä lajeista on eroteltu erilaisia serotyyppiejä, joita tunnetaan yli 2500 erilaista (kirjassa Quinn ym. 2011, WHO 2018a). Lähes kaikki tunnetut serotyypit ovat zoonoottiisia, ja vain pienen osan tiedetään olevan lajispesifisiä jollekin eläinlajille tai ihmisille (kirjassa Fox & Greene 2011). Eläimille tavallisimmin tautia aiheuttaa bakteerin *Salmonella enterica* alalaji *enterica* -bakteerin serotyypit (kirjassa Quinn ym. 2011).

2.5.1 *Salmonelloosin oireet ihmisillä ja kissoilla*

Salmonellan aiheuttamat oireet on jaettu yleensä kahteen kategoriaan; lavantauti/pikkulavantauti ja muiden serotyyppien aiheuttamat oirekuvat (non-

typhoidal salmonellosis NTS) (kirjassa Sanderson & Nair 2013, Duodecim 2012b). Lavantauti on *S. Typhi* -bakteerin aiheuttama vakava yleisinfektio ja pikkulavantauti on *S. Paratyphi* -bakteeriryhmän aiheuttama lavantautia hieman lievempi vakava yleisinfektio (kirjassa Sanderson & Nair 2013, Duodecim 2012b). Muut salmonellat aiheuttavat tavallisesti ihmisillä itsestään rajoittuvia mahasuolikanavan tulehduksia, mutta invasiivisemmat kannat voivat aiheuttaa vakavan bakteremian eli verenmyrkytyksen tai paikallisia infektioita muualle kuin ruoansulatuskanavaan (kirjassa Sanderson & Nair 2013).

Kissoilla salmonellatartunta voi olla täysin oireeton, vaikka eläin erittäisi salmonellabakteeria ulosteeseensa (Spain ym. 2001). Kliiniset oireet kissan salmonelloosissa ovat tapauselostuksissa olleet mahasuolikanavan tulehdus, bakteremia, tulehdus yhdessä tai useammassa elimessä, syömättömyys, väsymys, konjunktiviitti, krooninen kuumeilu ja abortit (Stiver ym. 2003). Yhdessä tutkimuksessa oli vahva epäily, että kissan krooninen virtsatietulehdusoireilu olisi voinut aiheutua salmonellasta vailla muita kliinisiä oireita (Fauth ym. 2015). Samaisessa tutkimuksessa havaittiin kissojen erittävän salmonellabakteeria ulosteeseensa, kunnes kissat oli hoidettu antibioottikuurilla (Fauth ym. 2015).

2.5.2 Yleisimmät tartuntalähteet

Yleisin syy salmonellatartuntaan on kontaminoituneiden elintarvikkeiden syöminen (katsauksessa Finley ym. 2006). Yhdysvalloissa on tutkimuksissa havaittu, että ihminen saa tavallisesti salmonelloosin siipikarjan lihasta tai kananmunista, mutta myös esimerkiksi jäätelö, hedelmät, mehut ja maito ovat aiheuttaneet isoja epidemioita (katsauksessa Sanchez ym. 2002). Yhdysvalloissa on havaittu maatilalla kotieläinten parissa työskentelyn olevan merkittävä riskitekijä (katsauksessa Sanchez ym. 2002). Yhdysvaltain elintarvike- ja lääkeviraston alajaosto Center for Veterinary Medicine (CVM) on asettanut myyntikiellon kilpikonnille, joiden kilven pituus on alle 10,2 cm (4 tuumaa), sillä ne on arvioitu suureksi riskiksi kansanterveydelle salmonellan takia (FDA 2018b). Suomessa tilanne on hyvin erilainen kuin monessa muussa maassa. Suomi on yhdessä Ruotsin

kanssa saanut Euroopan Unionissa erityistakuut maahan tuotavien eläinperäisten elintarvikkeiden salmonellavalvontaan (EY 853/2004). Suomessa asuva saa tartunnan todennäköisimmin ulkomailla matkustaessaan ulosteilla saastuneiden elintarvikkeiden välityksellä (EFSA 2016). Ruotsissa tutkittiin vuonna 2017 yhteensä 60 kpl koirille tarkoitettua raakaruokavalmistetta kymmeneltä eri valmistajalta. Näistä 4 kpl (7 %) oli salmonellaposiitivisia (Hellgren ym. 2019).

Lemmikkieläimet voivat olla yksi mahdollinen tartuntalähde ihmisille. Kissat on liitetty useampaan ihmisten sairastumisiin, joissa salmonellakannat olivat vielä poikkeuksellisen resistenttejä antibiooteille (Cherry ym. 2004, Wright ym. 2005). Salmonella voi elää tartuntakykyisenä asunnon biofilmeissä, varsinkin kosteissa paikossa, mutta mahdollisesti myös esimerkiksi pölynimurin pölypussissa (Barker & Bloomfield 2000, Rice ym. 2003). Lemmikkieläinten ruokakupeissa, joissa on ollut salmonellan kontaminoimaa ruokaa, salmonellan on havaittu ilman kunnollista pesua viihtyvän vähintään viikon ruokakupeissa (Weese & Rousseau 2006).

Kissoilla tartuntalähteet ovat hyvin samankaltaiset kuin ihmisillä. Vapaana ulkoileva ja saalistava kissa voi saada tartunnan syömällä luonnon lintuja, jotka ovat tavallisia salmonellan kantajia (SVA 2019). Raakaruokinta salmonellapitoisella lihalla tai muulla ravinnolla on havaittu olevan merkittävä salmonellatartunnan riski koirilla (Finley ym. 2007, Leonard ym. 2011). Kissoilla on todettu samanlainen yhteys raakaruokinnan ja kissan salmonelloosin välillä (Stiver ym. 2003). Tutkimuksissa on havaittu, että kissa voi saada salmonelloosin myös kuivaruoasta, jonka ainesosat on kuumennettu, mutta lopputuotetta ei ole enää kuumennettu (Fauth ym. 2015). Yhdysvalloissa ihmisillä oli vuosina 2006–2008 useita salmonellainfektioita, joiden lähteeksi osoitettiin lemmikit ja niiden syömä kuivaruoaka (Behravesh ym. 2010). Lemmikinruokatehtaassa oli oletettavasti tapahtunut kontaminaatio. Tehtaan valmistamien ruokien ainesosat ja lopputuote kuumennettiin, mutta ne päällystettiin vielä ennen pakkaamista. Tautitapauksista suurin osa esiintyi alle 3 vuotiailla lapsilla ja tautitapauksia oli kaikkialla Yhdysvalloissa (Behravesh ym. 2010).

2.6 *Yersinia enterocolitica* ja *Yersinia pseudotuberculosis*

Yersinia spp. on ryhmä itiöttömiä gram-negatiivisia kokkobasilleja (katsauksessa Bottone 1999). Bakteeriryhmän ihmisille ja eläimille yleisimmin tautia aiheuttavat lajit ovat *Y. enterocolitica*, *Y. pseudotuberculosis* ja *Y. pestis* (kirjassa Quinn ym. 2011). *Y. enterocolitica* -bakteerit on jaettu kuuteen biotyyppiin ja nämä on edelleen jaettu vielä yli 30 serotyyppiin ja vain pieni osa näistä on tunnistettu patogeeneiksi ihmisillä ja eläimillä (kirjassa Moxley 2013, kirjassa Fredriksson-Ahomaa 2017). Taulukossa 3 on esitetty maailmassa esiintyviä tautia-aiheuttavia bio- ja serotyyppejä ja näiden maantieteellinen esiintyminen. Suomessa tavallisin patogeeninen bioserotyyppi on 4/O:3, mutta biotyypin 1A kantoja on ollut ihmisten ulostenäytteissä eniten (Sihvonen ym. 2009). Biotyypin 1A kantoja ei ole tyypillisesti mielletty taudinaiheuttajiksi, mutta niiden aiheuttamia klinisiä sairaustapauksia raportoidaan satunnaisesti ja tällöin kanta on usein sisältänyt virulenssigeenin *ail* (Burnens ym. 1996, katsauksessa Bottone 1999). Tämän *ail*-geenin lisäksi kaksi muuta tavallista virulenssigeeniä ovat *inv* ja *ystA*. Patogeenisuuteen on kirjallisuudessa liitetty erityisesti *ail* ja *ystA*, joita tavataan lähinnä tautia aiheuttavilla bioserotyypeillä (kirjassa Fredriksson-Ahomaa 2017).

Yersinia pseudotuberculosis on jaettu 15 serotyyppiin (O:1–O:15), ja näistä viiden (O:1–O:5) on havaittu aiheuttavan klinisiä oireita ihmisille ja eläimille (katsauksessa Fredriksson-Ahomaa 2015). *Y. pseudotuberculosis* on taudinaiheuttajana samanlainen kuin *Y. enterocolitica*, mutta genomiltaan se muistuttaa kuitenkin huomattavasti enemmän ruttoa aiheuttavaa *Y. pestis* -bakteeria (kirjassa Bergman ym. 2010).

Taulukko 3. Tärkeimmät *Y. enterocolica* -bakteerin tautia-aiheuttavat bio- ja serotyypit (kirjassa Fredriksson-Ahomaa 2017)

Biotyyppi	Serotyyppi	Esiintyminen
1B	O:8	Sika (Eurooppa, USA, Aasia), villieläimet (Eurooppa, Aasia)
2	O:9	Sika (Eurooppa), lammas (Pohjoiset maat), villit pienet nisäkkäät (maailmanlaajuisesti), villisika (Eurooppa)
2	O:5, O:27	Sika (USA), villisika (Eurooppa)
3	O:3	Sika (Aasia), jyräjät (Aasia)
3	O:3 (O:1, O:2)	Chinchilla (Eurooppa)
4	O:3	Sika (maailmanlaajuisesti), jyräjät (maailmanlaajuisesti)
5	O:3 (O:2)	Lammas/vuohi (Eurooppa, Australia), villipeura (Eurooppa), jänis (Eurooppa)

2.6.1 Yersinioosin aiheuttamat oireet ihmisillä ja kissoilla

Yersinioosi aiheuttaa tavallisesti ihmisillä ja eläimillä suoliston tulehduksen eli enteriitin, jonka tavallisimmat oireet ovat ripuli, vatsakivut ja toisinaan kuume (Vantrappen ym. 1977, katsauksessa Bottone 1999, Duodecim 2018). Ihmisillä vatsakipujen on todettu muistuttavan erittäin paljon umpilisäkkeen tulehduksen aiheuttamaa kiputilaa (Delorme ym. 1974, Vantrappen ym. 1977).

Y. enterocolitica -bakteerin aiheuttama infektio voi yleistyä verenmyrkytykseksi, joka on vakava, mutta harvinainen komplikaatio ja epätavallinen perusterveellä ihmisellä (Spira & Kabins 1976, Bouza ym. 1980). Hengitysteiden tulehdukset ja paiseet ovat yksi mahdollinen *Y. enterocolitica* -bakteerin aiheuttama oirekuva (Bigler ym. 1981, Sodervik ym. 1986). Akuutti taudinkuva kestää yleensä aikuisilla 1–2 viikkoa ja lapsilla keston on havaittu vaihtelevan 3–28 vrk välillä (Vantrappen ym. 1977, Lee ym. 1990). Akuutin vaiheen jälkeen niin sanottuna jälkitautina voi

tulla esimerkiksi niveltulehduksia tai erythema nodosum eli kyhmyruusu (Spira & Kabins 1976, Vantrappen ym. 1977, Duodecim 2012a).

Y. pseudotuberculosis aiheuttaa ihmisillä vastaavia ruoansulatuskanavan yersinioosioireita kuin *Y. enterocolitica* (kirjassa Fox & Greene 2011). Taudinkuva voi kuitenkin kehittyä verenmyrkytykseksi tai suoliliepeen imusolmuketulehdukseksi (kirjassa Fox & Greene 2011). Jälkitautina on mahdollista saada reaktiivinen niveltulehdus tai kyhmyruusu, kuten *Y. enterocolitica* -bakteerin aiheuttamassa infektiossa (Hannu ym. 2003). Kirjallisuudessa on esitetty yhteys myös akuutin munuaisvaurion ja *Y. pseudotuberculosis* infektion välillä (Koo ym. 1996).

Kissoilla yersinioosi on usein oireeton, vaikka se erittäisi sitä ulosteeseensa (Yanagawa ym. 1978, Fredriksson-Ahomaa ym. 2001). *Y. enterocolitica* ei ole eläinkokeissa aiheuttanut koirille kliinisiä oireita, vaikka erittivät ulosteeseensa kyseistä bakteeria 1–2 vk ajan infektiivistä materiaalia sisältäneen aterian jälkeen (Hayashidani ym. 1995). *Y. pseudotuberculosis* infektion oireeksi kissalla on listattu lähinnä enteriitti (Spearman ym. 1979, kirjassa Fox & Greene 2011). Yersinioosi voi aiheuttaa maksavaurion hepaattisena yersinioosina. Kirjallisuudessa on kuvaus *Y. pseudotuberculosis* infektion kuolemaan johtaneesta maksavauriosta puumalla (Owston ym. 2006). Molemmat taudinaiheuttajat esiintyvät enemmän kylminä ja kosteina talvi- ja kevätkausina kuin muulloin (Vantrappen ym. 1977, kirjassa Fox & Greene 2011).

2.6.2 *Y. enterocolitica* ja *Y. pseudotuberculosis* yleisimmät tartuntalähteet

Tyypillisin lähde *Y. enterocolitica* -bakteerille on sianliha, erityisesti raakana (Lee ym. 1990, Fredriksson-Ahomaa ym. 2006). Muut kirjallisuudessa tunnetut tavallisimmat tartuntalähteet on eritelty taulukossa 4. *Y. enterocolitica* -bakteerin on todettu voivan siirtyä ihmisestä toiseen verensiirron välityksellä ja tuoreveren viileä säilytyslämpötila luo bakteerin lisääntymiselle riittävät olosuhteet (Stenhouse & Milner 1982).

Taulukko 4. Bakterien *Y. enterocolitica* ja *Y. pseudotuberculosis* tartuntalähteitä

Bakteeri	Yleisimmät tartuntalähteet	Lähde
<i>Y. enterocolitica</i>	Sianliha, sian suoli, makkarat (esim. salami), saastunut talousvesi, porkkanaraaste, pastöroitu maito, riista, kontakti lemmikkieläimen kanssa	(Ostroff ym. 1994, Fredriksson-Ahomaa ym. 2006, Bucher ym. 2008, Boqvist ym. 2009, kirjassa Fredriksson-Ahomaa 2017)
<i>Y. pseudotuberculosis</i>	Juurekset (esim. porkkana), jäävuorisalaatti, luonnon vedet, pastöroimaton maito, sianliha, villit jyräjät	(Kageyama ym. 2002, Han ym. 2003, Nuorti ym. 2004, Jalava ym. 2006, Rimhanen-Finne ym. 2009, Parn ym. 2015, Bonardi ym. 2016)

2.7 Shiga-toksiinia tuottava *Escherichia coli* eli STEC

Escherichia coli on muiden enterobakteerien tapaan gram-negatiivinen sauvabakteeri (kirjassa Quinn ym. 2011, kirjassa Smith & Fratamico 2017). Ne elävät ihmisten ja muiden eläinten suolistossa kommensaaleina eli ne kuuluvat suoliston normaalimikrobistoon (katsauksessa Kaper ym. 1998, kirjassa Quinn ym. 2011). Suolistossa kommensaaleina elävät *E. coli* -tyypit aiheuttavat tautia harvoin ja useimmiten vain opportunistisia infektiota vastustuskyvyltään heikoimmille yksilöille (katsauksessa Kaper ym. 1998). Patogeeniset eli tautia-aiheuttavat elintarvikkeiden välityksellä leviävät *E. coli* -bakteerit on jaettu kuuteen pääkategoriaan niiden virulenssitekijöiden ja muiden patogeenisyystekijöiden perusteella (katsauksessa Kaper ym. 1998). Tavallisimmin shiga-toksiinia (virulenssitekijänä joko *stx1*, *stx2* tai molemmat) tuottavat bakteerit ovat kategoriassa EHEC eli enterohemorraginen *E. coli* (katsauksessa Kaper ym. 1998, kirjassa Smith & Fratamico 2017). Muut ovat enteropatogeeninen *E. coli* (EPEC), enterotoksinen *E. coli* (ETEC), enteroaggregatiivinen *E. coli* (EAEC), enteroinvasiivinen *E. coli* (EIEC) ja diffuusisti adheroiva *E. coli* (DAEC) (katsauksessa Kaper ym. 1998, kirjassa Smith & Fratamico 2017).

STEC-bakteerilajit on jaettu kahteen alatyyppiin, jotka ovat O:157 ja non-O:157, eli kannat, jotka eivät ole tyyppiin O:157 sopivia (katsauksessa Castro ym. 2017). Tyypillisin tautia aiheuttava STEC-bakteerin serotyyppi on O:157:H7 (kirjassa Smith & Fratamico 2017). Vakavammat sairastapaukset ovat yleensä O157-tyyppien aiheuttamia (katsauksessa Castro ym. 2017). Shiga-toksiinien *stx1* ja *stx2* lisäksi STEC-bakteereilla voi olla virulenssitekijänä *eae*-geeni, mikä tekee STEC-bakteerista usein virulentimman, eli kyseiset kannat aiheuttavat vakavampia taudinkuvia (Oporto ym. 2008, kirjassa Smith & Fratamico 2017).

2.7.1 STEC-infektion oireet ihmisillä ja kissoilla

Shiga-toksiinia tuottavat *E. coli* -bakteerit aiheuttavat ihmisillä lievimmillään vetistä ripulia (kirjassa Smith & Fratamico 2017). STEC-infektiot voivat kuitenkin aiheuttaa paljon vakavampia sairauksia. Hemorraaginen koliitti eli verinen paksusuolen tulehdus kehittyy suunnilleen 90 %:lle infektion saaneista. Näistä infektioista 5–15 % etenee vielä vakavammaksi taudiksi eli hemolyyttis-ureemiseksi oireyhtymäksi (HUS). Keskimäärin 5–15 % HUS-oireyhtymään sairastuneista menehtyy (kirjassa Smith & Fratamico 2017). Hemolyyttis-ureeminen oireyhtymä aiheuttaa hemolyyttisen anemian, trombosytopenian eli verihiutaleiden vähenemisen ja akuutin munuaisten toimintahäiriön (Elliott ym. 2001). Useimmat HUS-oireyhtymästä selvinneet paranevat ilman pysyviä vaurioita, mutta osalle jää pitkäaikaisia ongelmia esimerkiksi munuaisten, keskushermoston tai ruoansulatuskanavan kanssa (kirjassa Smith & Fratamico 2017). STEC-infektio voi johtaa myös tromboottiseen trombosytopeeniseen purppuraan (TTP), mikä aiheuttaa verihyytymiä pienissä verisuonissa. Eniten komplikaatioita STEC-infektioissa on pienillä lapsilla ja vanhuksilla (kirjassa Smith & Fratamico 2017). Tyypillisimmin HUS tai TTP aiheutuvat STEC-bakteerin serotyypin O:157:H7 infektiosta (katsauksessa Castro ym. 2017).

Kissojen STEC-infektion oireista on kirjallisuudessa vähän tietoa. Infektio on kissoilla yleensä täysin oireeton tai joskus saattaa esiintyä suoliston tulehdistusta eli tyypillisesti ripulia (Smith ym. 1998, Rumi ym. 2012). Kissat voivat erittää STEC-

bakteereita ulosteeseensa, vaikka kliinisiä oireita ei olisi (Smith ym. 1998, Rumi ym. 2012).

2.7.2 Tavallisimmat STEC-infektion tartuntalähteet

STEC-bakteerien reservuaarina eli säilymispaikkana pidetään nautaeläimiä ja muita märehtijöitä (katsauksessa Kaper ym. 1998). Ne eivät kehitä kliinistä taudinkuvaa infektoituttuaan, sillä märehtijöiltä puuttuu sopiva reseptori shiga-toksiineille (kirjassa Koenig 2011). Huonosti kypsennetty naudanliha, erityisesti sisältä punainen jauhelihapihvi, on tunnettu riski infektiolle ja on aiheuttanut isoja epidemioita Yhdysvalloissa pikaruokaravintoloissa mm. vuosina 1975, 1982 ja 1993 (Riley ym. 1983, Bell ym. 1994). Infektio on mahdollista saada myös saastuneen talousveden välityksellä, joka voi johtaa laajaan epidemiaan (Swerdlow ym. 1992). Vesi voi olla tartuntalähteenä myös uimareille (Keene ym. 1994). Veden ja naudanlihan lisäksi tiedetään epidemioita, joiden lähteeksi on tunnistettu esimerkiksi raakamaito (eli pastöroimaton maito), salamimakkara, tuorejuustot tai salaatti (Tilden ym. 1996, Keene ym. 1997, Ackers ym. 1998, Pradel ym. 2000).

Tartunta on mahdollista saada myös suoraan sairastuneelta ihmiseltä tai kontaktista märehtijään, esimerkiksi vierailulla kotieläintilalle (Bell ym. 1994, Crump ym. 2002). Lemmikkieläimet ovat yksi mahdollinen tartuntalähde, ja kissojen on todettu voivan erittää STEC-bakteeria ulosteeseensa ilman näkyviä kliinisiä oireita (Rumi ym. 2012).

2.8 Kampylobakterioosi, salmonelloosi, yersinioosi ja STEC Suomessa

Suomessa todettiin vuonna 2017 yhteensä 4 289 kampylobakteeriksi varmistettua tartuntaa (THL 2018a). Se on Suomessa yleisin tutkituista mahasuolitulehduksen aiheuttajista. Yleisin aiheuttaja oli *C. jejuni* 3 594:lla todetulla tartunnalla (THL 2018b). Tartuntoja todettiin eniten aikuisväestöllä ja tartuntoja oli eniten loppukesästä. Tartuntamaata ei kyetty selvittämään 44 %:ssa tapauksista, mutta

selvitetyistä tapauksista 15 % oli kotimaisia. Kotimaasta saatujen tartuntojen määrä on lisääntynyt vuodesta 2010, mutta syytä ei ole saatu selvitettyä (THL 2018b).

Salmonellatartuntoja todettiin Suomessa vuonna 2017 yhteensä 1550 kappaletta (THL 2018a). Eniten tartuntoja oli nuorilla aikuisilla (THL 2018b). Lavantautia ja pikkulavantautia aiheuttavien alalajien *S. Typhi*- ja *S. Paratyphi* -bakteerien tartuntoja oli muutamia ja kaikki olivat ulkomailla saatuja tartuntoja. Terveystieteiden ja hyvinvoinnin laitos ei ole enää vuoden 2017 alun jälkeen ottanut vastaan tutkittavaksi kuin kotimaisia, poikkeuksellisen voimakkaita tai *S. Typhi* ja *S. Paratyphi* tartuntoja aiheuttaneita kantoja. Lähetettyjen salmonellakantojen perusteella laskettuna 20 % kaikista ilmoitetuista tartunnoista oli kotimaista alkuperää (THL 2018b).

Vuoden 2017 aikana oli todettu *Y. enterocolitica* -tartuntoja 518 kpl (THL 2018a). Eniten tartuntoja todettiin nuorilla aikuisilla ja Suomen sisällä alueelliset vaihtelut olivat suuria (THL 2018b). Tartuntamaatieto puuttui 77 %:ssa tapauksista (THL 2018b). *Y. pseudotuberculosis* -tartuntoja todettiin 12 kpl vuonna 2017 (THL 2018a).

Shiga-toksiinia tuottava *E. coli* -bakteerin (THL:n tilastoissa käytännössä EHEC eli enterohemorraginen *E. coli*) aiheuttamia tartuntoja vuonna 2017 oli Suomessa 124 kappaletta (THL 2018a). Tapauksia oli eniten vauvoilla ja pikkulapsilla, mikä eroaa muista mahasuolitulehduksia aiheuttavista bakteereista (THL 2018b). Kotimaisia tartuntoja oli 51 % ja näistä yhdeksän epäiltiin liittyvän suoraan kontaktiin maatilaan (THL 2018b).

2.9 Muut infektioriskit riskit raakaruokinnassa

Raakaruokaan on kirjallisuudessa liitetty aiemmin esiteltyjen bakteerien lisäksi monia muitakin riskejä. Tavallisimmat ovat lihasta löytyvät ruokamyrkytyksiä aiheuttavat bakteerit jo aiemmin käsiteltyjen lisäksi *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Listeria monocytogenes* ja *Staphylococcus aureus* (kirjassa Collins ym.

2015). Esimerkiksi *L. monocytogenes* -bakteeria on löytynyt Hollannissa tehdyssä tutkimuksessa 54 %:ssa, ja tutkittuja näytteitä oli yhteensä 35 kappaletta (van Bree ym. 2018). Yhdysvalloissa tehdyssä tutkimuksessa tutkittiin 576 näytettä (mm. raakaruokaa, siankorvia, jyrsojen ja matelijoiden ruokaa), joissa *L. monocytogenes* -bakteerin esiintyvyys oli 16 % (Nemser ym. 2014). *C. perfringens* -bakteerin esiintyvyyttä raakaruuoissa on tutkittu Ruotsissa vuonna 2017. Tutkijat ostivat 60 koirille tarkoitettua raakaruokaa näytteeksi ja näistä 30 % sisälsi *C. perfringens* -bakteeria niin paljon, että tutkimusmenetelmä havaitsi sen. Kahdessa näytteessä (3 %) määrä ylitti Ruotsin salliman raja-arvon anaerobisille bakteereille (Hellgren ym. 2019).

Tautia aiheuttavien bakteerien lisäksi raa'assa lihassa voi olla antibiooteille resistenttejä bakteereita. Aiemmin mainitussa Hollannissa tehdyssä tutkimuksessa tutkittiin 35 kaupallista raakaruokaa ja näistä 80 %:sta löytyi ESBL (extended spectrum beta-lactamases) ominaisuuden sisältäviä *E. coli* -bakteereita (van Bree ym. 2018). Toinen Hollannissa tehty tutkimus selvitti ESBL:n tuottamiseen kykenevien enterobakteerien (esim. *E. coli* ja *Klebsiella* spp.) esiintyvyyttä kissojen raakaruoaissa ja raakaruoaalla ruokittujen kissojen ulosteissa (Baede ym. 2017). Tutkimuksessa oli 51 ulostenäytettä teollista kuumennuskäsiteltyä ruokaa syövilta kissoilta (kontrolli) ja 57 ulostenäytettä raakaruokaa syövilta. ESBL löytyi kontrolliryhmän kissojen ulosteesta 6 %:sta ja raakaruokaa syövilta se löytyi 90 %:sta ulostenäytteistä. Raakaruokia tutkittiin 18 kpl ja näistä ESBL löytyi 78 %:sta. Lämpökäsitellyistä kontrolliruoista ei löytynyt lainkaan ESBL:n tuottamiseen kykeneviä enterobakteereita (Baede ym. 2017). Suomessa on tutkittu vuonna 2016 teurastamoilla nautojen, sikojen, broilereiden ja kalkkunoiden ulostenäytteistä *E. coli* -bakteereita, joilla on ESBL- tai AmpC-ominaisuus (Paivarinta ym. 2016). Positiivisia tuloksia oli naudoissa 1 %, sioissa 2 % ja broilereissa 8 %. Kalkkunoista ei löytynyt lainkaan ESBL/AmpC positiivisia näytteitä. Tutkimuksessa havaittiin Suomen teuraseläimissä ESBL:n esiintyvyyden olevan matalampi kuin muualla Euroopassa, sillä vuonna 2016 Euroopan Unionin keskiarvo oli ESBL tai AmpC *E. coli* -bakteereiden esiintyvyydessä oli 57 % (EFSA 2018b). *C. jejuni* -bakteerin antibioottiresistenssitilanne on herättänyt huolta Euroopassa ja vuonna 2016

broilereista löytyneistä kannoista vain 28 % oli herkkiä kaikille testattaville antibiooteille. MRSA-bakteereja (metisilliinille resistentti *Staphylococcus aureus*) ei EU:n tasolla ole lihatuotteista juurikaan löytynyt. Kuitenkin kliinisesti terveissä eläimissä, varsinkin sioissa, on tavattu usein MRSA (EFSA 2018b). Kanadassa tehdyssä tutkimuksessa vertailtiin sairaaloissa vierailevien terapiakoirien riskiä erittää ulosteessaan ESBL-bakteeria ja muita zoonoottisia bakteereita. Koirat oli jaettu kahteen ryhmään riippuen siitä, olivatko ne syöneet raakaruokaa vai muuta ruokaa tutkimuksen aikana. Raakaruokinnan havaittiin lisäävän ESBL- ja salmonellabakteerien esiintyvyyttä koirien ulosteessa. Lisäksi näiden kahden bakteerin esiintyvyydessä yhdessä havaittiin tilastollisesti merkittävä yhteys. MRSA-bakteerin esiintyvyyteen sieraimissa tai ulosteessa ei havaittu ruokinnalla olevan vaikutusta. Koirien kliinisestä voinnista ei voinut päätellä erittääkö se jotain zoonoottista bakteeria (Lefebvre ym. 2008).

Raa'assa lihassa voi olla tautia aiheuttavien bakteerien lisäksi loisia. Merkittävin loinen, minkä kissa voi raa'asta lihasta saada ja tartuttaa ihmiseen, on *Toxoplasma gondii* (van Bree ym. 2018). Muut mahdolliset loiset aiheuttavat tautia lähinnä kissalle, mutta eivät tartu enää kissasta ihmiseen (van Bree ym. 2018). Toksoplasman esiintyvyyttä raakaruuoissa on tutkittu jonkin verran. Hollannissa tutkittiin 35 raakaruokaa, ja näistä 6 %:sta löytyi PCR-menetelmällä *T. gondii*-loisen DNA:ta (van Bree ym. 2018). Kanadassa tehdyssä tutkimuksessa raa'assa sianlihassa *T. gondii* -loisen esiintyvyys vaihteli alueittain 4–14 % välillä (Gajadhar ym. 1998). Raa'assa lihassa ei tulisi esiintyä *Taenia*- tai *Trichinella*-suvun loisia, koska näiden loisten esiintyminen tutkitaan lainsäädännön vaatimalla tavalla tehdyssä lihantarkastuksessa (WHO 2018b, EU 2015/1375, EY 854/2004).

2.10 Muita tunnettuja raakaruoan riskejä

Eläimen ruokavaliossa voi olla vakavia ravitsemuksellisia puutteita tai ravintoaineiden epätasapainoa, jotka voivat johtaa terveysongelmiin (Freeman & Michel 2001). Yhdysvalloissa tehdyssä tutkimuksessa selvitettiin kotitekoisten ja kaupallisten raakaruokien ravintoainekoostumuksia. Tutkittujen ruokien

ravintoainekoostumusta verrattiin American Association of Feed Control Officials (AAFCO) luomiin ravintoainesuosituksiin. Tutkimuksessa havaittiin, että ruokavalioissa oli mm. ongelmia kalsiumin ja fosforin välisessä suhteessa sekä vitamiinien määrässä (Freeman & Michel 2001). Kalsiumin ja fosforin epätasapaino voi johtaa sekundääriseen hyperparatyreoosiin eli lisäkilpirauhasen liikatoimintaan (Lenox ym. 2015). Tämä johtaa luiden haurastumiseen eli niin sanottuun paperiluutautiin. Yksipuolinen raakaruokavalio voi aiheuttaa myös tauriinin puutoksen, mikä voi aiheuttaa sokeutta ja sydämen vajaatoimintaa (Lenox ym. 2015). Vitamiineista esimerkiksi vitamiini D:n liikasaannin on puolestaan havaittu aiheuttavan kissoilla systeemistä kalsinoosia eli pehmytkudoksissa tapahtuvaa kalkkeutumista (Morita ym. 1995). Portugalilaisessa tutkimuksessa vertailtiin internetistä löytyneitä 106 reseptiä raakaruokan koostamiseen kotona. Näistä useissa oli ilmaistu ravintoaineiden määrät epäselvästi ja useimmissa oli vakaviakin ravintoainepuutoksia (vitamiini- tai mineraalilisiä ei suositellut 54 %) tai jopa vaarallisia raaka-aineita, kuten valkosipulia tai sipulia, oli suositeltu 10 %:ssa resepteistä (Pedrinelli ym. 2017).

Mikäli raakaruokintaan kuuluvat luut, ne voivat muodostaa riskin lemmikin terveydelle. Kissoilla luut voivat aiheuttaa ruokatorven tukoksen (Frowde ym. 2011). Luiden on raportoitu aiheuttavan mm. suoliston perforaatioita eli repeämiä suolistoon, hammasmurtumia (erityisesti koirilla) ja ummetusta (Freeman & Michel 2001).

2.11 Raakaruokintaan liittyvien riskien hallinta

Ruokavirasto on julkaissut ohjeet rehuteollisuuden toimijoille ja kotitalouksille koskien lemmikkieläinten eläinperäistä raakaruokaa (Ruokavirasto 2018a). Kyseinen ohje ei kuitenkaan ota kantaa lemmikin kuppien pesuun tai niiden materiaaliin. Välineinä suositellaan käytettävän metallisia tai keraamisia ruokakuppeja, jotka tulisi puhdistaa vähintään 70 °C:lla vedellä (Ruokavirasto 2018a). Kuitenkin esimerkiksi salmonellan on havaittu jäävän kupin pinnalle, vaikka sen pesisi astianpesukoneessa lämpötilassa 85 °C (Weese & Rousseau 2006).

Tutkimuksessa verrattiin eri puhdistusmenetelmien tehokkuutta salmonellan puhdistamiseen kupin pinnalta. Tulokset on esitetty tarkemmin taulukossa 5. Tutkimuksessa havaittiin, että ilman puhdistusta salmonella selviää kupin pinnalla ainakin viikon verran (Weese & Rousseau 2006). Ruokakupit ja muut raakaruohan kanssa kosketuksissa olleet pinnat olisi suositusten mukaan puhdistettava ja desinfioitava usein, mielellään joka päivä (Behravesh ym. 2010). Lemmikkien kuppeja ja välineitä ei suositella pestäväksi samassa tiskialtaassa ja välineillä kuin ihmisten ruokailuvälineet (Behravesh ym. 2010).

Kuppien huolellisen puhdistuksen ohella riskejä voidaan hallita yleisellä keittiöhygienialla. Ruokavirasto suosittelee käyttämään keittiössä omia erillisiä leikkuulautoja ja muita välineitä lemmikin raakaruohan käsittelyssä. Lemmikin raakaruoka tulisi säilyttää pakastimessa ja jääkaapissa erillään ihmisten ravinnosta omissa suljetuissa pakkauksissa tai astioissa. Sulatettu raakaruoka tulisi käyttää mahdollisimman pian, eikä kerran sulatettua raakaruokaa tulisi pakastaa enää uudelleen. Sulatus olisi suositeltavaa tehdä jääkaapissa huoneenlämmön sijaan (Ruokavirasto 2018a). Ruoan käsittelyn jälkeen kädet tulisi pestä mahdollisimman pian mahdollisten bakteerien leviämisen estämiseksi (Behravesh ym. 2010). Riittävä käsienpesu vaatii vähintään 20 s kestävän huolellisen käsienpesun saippualla (Ruokavirasto 2019a). Mikäli perheessä on lapsia, tulisi huolehtia etteivät lapset pääse lemmikkien kupeille, koskemaan raakaruokaa tai kosketuksiin lemmikin ulosteiden kanssa. Lemmikkien ulosteita ei tulisi aikuistenkaan käsitellä paljain käsin, sillä uloste on mahdollinen tartuntalähde (Ruokavirasto 2018a).

Taulukko 5. Erilaisten puhdistusmenetelmien tehokkuus salmonellan puhdistamisessa. Taulukossa on esitetty puhtaiden kuppien lukumäärä käsittelyn jälkeen (Weese & Rousseau 2006).

Puhdistusmenetelmä	Muovinen kuppi	Ruostumaton teräs
Huuhtelu lämpimällä vedellä	1/12	0/12
Huuhtelu lämpimällä vedellä ja mekaaninen puhdistus	1/12	0/12
Huuhtelu lämpimällä vedellä ja mekaaninen puhdistus saippualla	3/12	2/12
5 min käsittely 10 % kloriitti-liuoksella	3/12	4/12
Pesu astianpesukoneessa 85 °C	4/12	4/12
Huuhtelu lämpimällä vedellä, mekaaninen puhdistus tiskiaineella ja 5 min 10 % kloriitti-liuoksella	6/12	8/12
Kontrolli ilman puhdistusta	0/12	0/12

Keittiöhygieniasta huolehtiminen on tärkeää bakteerien leviämisen estämiseksi. Tiettyjen salmonellan serotyyppien on havaittu pysyvän tartuntakykyisinä kodin kosteilla pinnoilla biofilmeissä jopa useita viikkoja (Barker & Bloomfield 2000). Britanniassa tehdyssä tutkimuksessa ostettiin satunnaisesti broilerin lihaa päivittäistavarakaupoista, joista vapaaehtoiset valmistivat itselleen ruokaa. Lihasta otettiin näyte, josta tutkittiin salmonella ja kampylobakteerit. Kotitaloudet jaettiin kolmeen ryhmään, joista jokaisessa otettiin keittiöympäristöstä useita pintahygienianäytteitä ruoan valmistuksen ja siivoamisen jälkeen. Jokainen ryhmä siivosi eri tavalla, ensimmäinen ryhmä siivosi ilman erillistä ohjeistusta, toinen ryhmä siivosi saippualla ja lämpimällä vedellä ja kolmas ryhmä käytti vielä hypokloriittia desinfiointiaineena. Pelkkä puhdistusaine ja lämmin vesi puhdistivat pintoja kohtuullisesti, mutta hypokloriitti selvästi paransi puhdistustulosta. Kuitenkin edes desinfiointi ei puhdistanut pintoja täydellisesti, joskin kampylobakteeria löytyi pinnoilta paljon vähemmän kuin salmonellaa (Cogan ym. 1999). Myöhemmin sama tutkimusryhmä vertaili keittiön puhdistusliinojen salmonella- ja kampylobakteerimääriä. Keittiöissä valmistettiin ruokaa

salmonellalla tai kampylobakteerilla saastuneesta broilerin lihasta. Puhdistusliinat puhdistettiin saippuavedessä, puristeltiin kuivaksi ja laitettiin kuivumaan keittiön pintojen puhdistuksen jälkeen. Tutkimuksessa havaittiin, että kodin siivousliinat voivat levittää sekä salmonellaa että kampylobakteereja. Puhdistusmenetelmä tuhosi kampylobakteerit lähes täysin, mutta salmonellaa >1000 pesäkettä muodostavaa yksikköä (pmy) löytyi viidestä prosentista tutkituista liinoista vielä puhdistuksen ja kuivumisen jälkeen (Cogan ym. 2002).

3. TUTKIMUKSEN TAVOITE

Tutkimuksessa haluttiin selvittää, siirtyvätkö ruoassa olevat tautia aiheuttavat bakteerit kissan ruoansulatuskanavan kautta sen ulosteeseen. Tutkittavana olivat kampylobakteereista erityisesti lämpökestoiset kampylobakteerit *C. jejuni*, *C. coli* ja *C. lari*. Salmonellabakteereista tutkimuksessa keskityttiin NTS-kantoihin (non-typhoidal salmonella) ja erityisesti *Salmonella enterica* subs. *enterica* -serotyyppeihin. *Yersinia* spp. suvun lajeista tutkimuksessa oltiin kiinnostuneita erityisesti suolistotulehduksia aiheuttavista lajeista *Y. enterocolitica* ja *Y. pseudotuberculosis*. *E. coli* -bakteereista tutkimuksessa keskityttiin shiga-toksiinia tuottaviin *E. coli* -bakteereihin. Muut tautia aiheuttavat *E. coli* -tyypit on rajattu tutkimuksen ulkopuolelle.

Tässä tutkimuksessa on pyritty selvittämään, että sisältävätkö Suomessa myytävät kissoille soveltuvat raakalihatuotteet ihmisille tauteja aiheuttavia bakteereita. Toinen tutkimuksen tavoite oli selvittää, siirtyvätkö ruoassa mahdollisesti esiintyvät patogeenit kissan ulosteeseen.

4. MATERIAALIT JA MENETELMÄT

4.1 Ruoka- ja ulostenäytteet

Tutkimuksen aikana kerättiin yhteensä 121 ruoka- ja ulostenäytettä aikavälillä marraskuu 2015 – marraskuu 2016. Ruokanäytteitä oli tutkimuksessa yhteensä 48 kpl, jotka olivat eläinkaupasta tai päivittäistavarakaupasta ostettuja lemmikkien rehuksi tarkoitettuja pakastettuja raakoja lihatuotteita, sekä ihmisravinnoksi tarkoitettuja pakastamattomia raakoja lihatuotteita (taulukko 6). Eläinkaupasta hankittujen makkaran muotoon pakastetuista raakalihanäytteistä on kymmenestä näytteestä tuplanäytteet, joista ensimmäinen on otettu ensimmäisellä tarjoilukerralla ja toinen viimeisellä. Tästä makkarasta sahattiin jäisenä veitsellä osa jääkaappiin sulamaan tarjoilua varten ja loput laitettiin takaisin pakastimeen. Yksi makkara sahattiin lopulta neljään osaan. Kahdesta tässä muodossa olleesta näytteestä on vain yksi näyte, sillä toisen kissan tultua talouteen makkaran muotoon pakastettua ruokaa ei tarvinnut enää sahata yhtä moneen kertaan. Välissä makkaraa on säilytetty pakkasessa ja siitä on veitsellä sahattu n. 1/3 sulatukseen tarjottavaksi. Taulukossa 6 on suluissa kirjattuna itsenäisten, erillisten näytteiden lukumäärä. Kategoriassa muu on erinäisiä lihasekoituksia, jossa kaikissa on yhtenä osana ollut broilerinlihaa. Lisäksi seassa on ollut esimerkiksi naudan tai sianlihaa.

Taulukko 6. Ruokanäytteet ryhmiteltynä pääraaka-aineen mukaan.

Pääraaka-aine	A	B	C
Siipikarja	21 (13)	5	1
Sika	5 (3)	2	0
Nauta	2 (2)	2	1
Sika-nauta	1 (1)	1	3
Muu	4 (4)	0	0
Yhteensä	33 (23)	10	5

A: Lemmikkieläinkauppa (pakastettu)

B: Päivittäistavarakauppa (pakastamaton)

C: Päivittäistavarakauppa (pakastettu)

Ulostenäytteitä kerättiin kahdelta kissalta. Näytteitä kerättiin yhteensä 73 kappaletta. Aamulla annettiin tutkittavaa lihaa ja ainoastaan sitä syötettiin koko päivän. Ulostenäyte kerättiin joko samana iltana tai seuraavana päivänä hiekkalaatikosta. Hiekkalaatikko siivottiin iltapäivällä, jotta saatava ulostenäyte olisi varmemmin se, joka sisältää tutkittavaa ruoka-ainetta. Aina kun mahdollista, ulostenäyte kerättiin heti ulostamisen jälkeen. Kissalta A (synt. 19.4.2015) kerättiin näytteitä koko tutkimuksen ajan ja kissalta B (synt. 22.1.2016) kerättiin näytteitä välillä toukokuu 2016 – marraskuu 2016 (Taulukko 7). Kissojen ulosteet erotettiin toisistaan koon perusteella (nuoremman kissan ulosteet olivat kooltaan huomattavasti pienempiä) tilanteissa kun ei ollut mahdollista kerätä näytettä heti ulostamisen jälkeen. Tutkimuksen aikana käytetty kissanhiekka oli mikrohiekkaa (sis. luonnonsavi, zeoliitti ja hajuste), jonka ei pitäisi vaikuttaa bakteerien kasvuun merkittävästi.

Taulukko 7. Tutkimuksessa kerätyt ulostenäytteet kissan mukaan ryhmiteltynä

Kissa	Ulostenäytteiden lukumäärä
Kissa A	45
Kissa B	28

Kokeessa kissat, joilta kerättiin ulostenäytteitä, olivat sisäkissoja ja saaneet raakaruokaa jo kasvattajiensa luona ennen vieroitusta. Kissat ulkoilivat parvekkeella ja ulkona valjaissa valvotusti. Näin ollen 0-näytettä ennen raakaruokan antamista ei ollut mahdollista saada. Kissat olivat eri kasvattajilta, molemmilla oli ollut kontakti koiraan kasvattajan luona ja muihin kissoihin (kissa A; emo, kaksi muuta kissaa ja pentueessa kaksi sisarusta, kissa B; emo, seitsemän muuta kissaa ja neljä sisarusta).

Ruokanäytteiksi kerättiin n. 10 g lihamassaa joko jäisestä tuotteesta tai sulasta riippuen tuotteen tilasta ostohetkellä. Jäisenä ostetusta tuotteesta otettiin näyte sulattamatta sitä. Tämä n. 10 g näyte laitettiin uudelleen suljettavaan muovipussiin (Minigrip tai vastaava) ja säilytettiin -20 °C lämpötilassa käsittelyyn asti.

Ulostenäytteet kerättiin tavallisesti hiekkalaatikosta mahdollisimman pian ulostamisen jälkeen (sisältäen mahdollisimman vähän kissanhiekkaa) kannelliseen muovipurkkiin ja säilytettiin -20 °C lämpötilassa käsittelyyn asti. Ulostenäytteitä punnittiin oikea määrä (1 g) vasta käsittelyvaiheessa laboratoriossa.

4.2 Näytteiden käsittely ja bakteerien osoitus näytteistä

Ruokanäytteiden sekaan lisättiin 90 ml puskuroitua peptonivettä (BPW, LAB M, Suomi) samaan pussiin, johon näyte oli aiemmin kerätty. Osa kiinteimmistä näytteistä käsiteltiin vielä stomacherilla (LabBlender 400, UK) 1–2 minuuttia riippuen näytteen koostumuksesta. Ulostenäytteet punnittiin vetokaapissa käyttäen näytteen jakamiseen puhtaita välineitä. Näytettä punnittiin 1 g samaan purkkiin, mihin se oli alun perin kerätty. Purkkiin lisättiin 9 ml puskuroitua peptonivettä, jonka jälkeen purkkia vorteksoitiin, kunnes uloste oli liuennut peptoniveteen. Näistä peptonivesiseoksista tehtiin suoraviljelyt selektiivisille agarmaljoille (kuva 3). Jokaista ruokanäytettä pipetoitiin 100 µl neljälle eri selektiivimaljalle ja ulostenäytteitä pipetoitiin 100 µl kolmelle erilaiselle selektiiviselle maljalle. Maljoille tehtiin hajotusviljely (kuva 2).



Kuva 2. Hajotusviljelmä CIN-maljalla. Kuva: Tiina Heikkilä

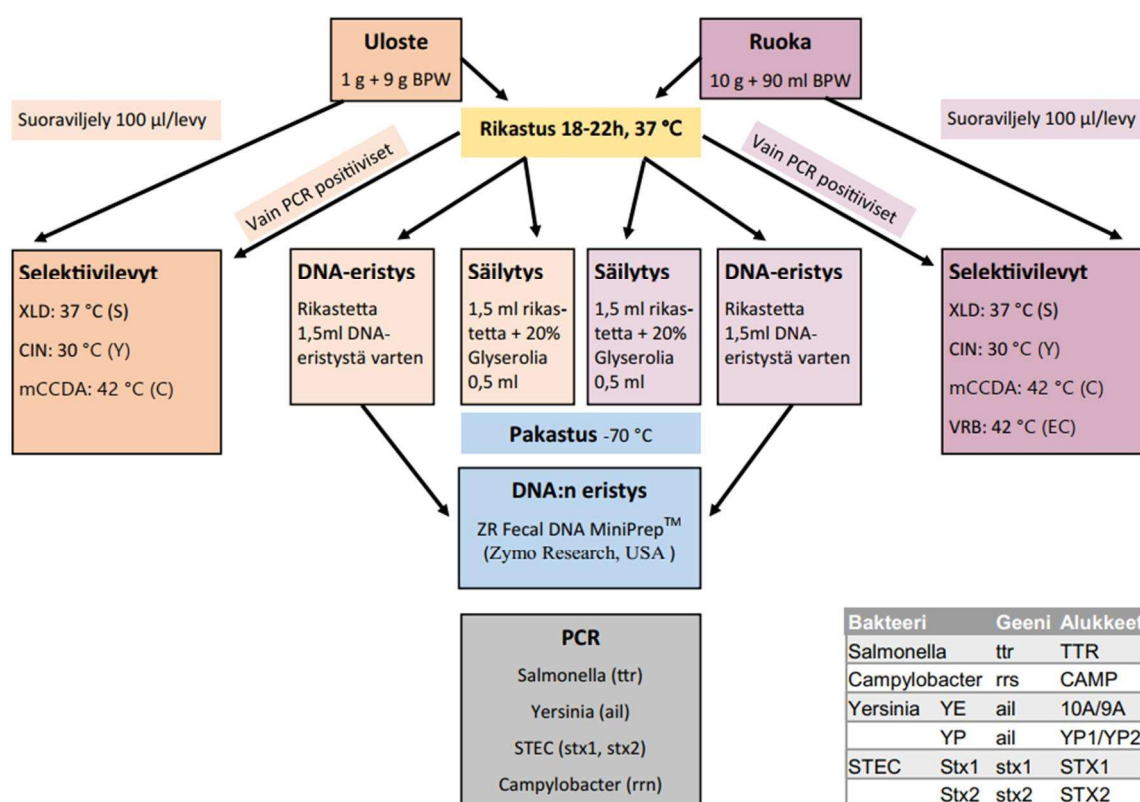
Suoraviljelyn jälkeen ruoka- ja ulosteseoksia inkuboitiin n. 18–22 h ajan 37 °C:ssa. Rikastuksen jälkeen näytteistä tehtiin mahdollisia myöhempiä viljelyjä varten glyserolisäilytysseos. Nämä tehtiin 2 ml Eppendorf-putkiin jokaisesta näytteestä. Näyte sekoitettiin ja siitä otettiin automaattipipetillä 1,5 ml nestettä ja se siirrettiin Eppendorf-putkeen. Kärki vaihdettiin aina jokaisen erillisen näytteen välillä. Lopuksi kaikkiin putkiin pipetoitiin 0,5 ml 20 % glyseroliliuosta käyttäen samaa pipetinkärkeä, ellei kärki osunut näytemateriaaliin. Glyseroliliuoksen lisäämisen jälkeen jokainen Eppendorf-putki vorteksoitiin. Nämä putket säilöttiin -70 °C:ssa. Rikasteista otettiin PCR-tutkimusta varten 1,5 ml Eppendorf-putkiin. Näytteet sekoitettiin ennen kuin niistä otettiin automaattipipetillä haluttu määrä liuosta. PCR-työt tehtiin huolellisesti varoen omalla DNA:lla näytteiden kontaminointia. Tämä prosessi on kuvattu tarkemmin kappaleessa 4.2.2. Rikastetut näytteet siirrettiin tutkimuksen ajaksi säilytykseen 4 °C, joista PCR-positiiviset näytteet viljeltiin uudelleen selektiivimaljoille.

4.2.1 Bakteeriviljelyt ja käytetyt agar-tyypit

Tutkimuksen aikana käytettiin pääasiallisesti selektiivisiä viljelymaljoja. Erillisiä esirikastuksia ei tehty ensimmäisen suoraviljelyn yhteydessä, joten käytettyjä työohjeita on siltä osin muokattu. Kaikkien näytteiden kohdalla maljoille pipetoitiin 100 µl näytettä liemestä ennen rikastusta, joka hajotusviljeltiin (kuva 2 ja kuva 3). Suoraviljelyiden lisäksi tutkimuksessa viljeltiin PCR-positiiviset näytteet 4 °C:ssa

säilytyksessä olleista homogenaateista, jotka oli esirikastettu 37 °C lämpötilassa 18–22 h ajan. *Campylobacterien* viljely tehtiin Ruokaviraston työohjeen suosittelemaa agaria käyttäen mCCDA (Oxoid, UK) ja osa PCR-positiivisista suoraviljeltiin myös chromogeeniselle agarille CHROMagar™ *Campylobacter* (LAB M, Suomi) hyödyntäen 4 °C säilytyksessä olleita alkuperäisiä näytteitä (Ruokavirasto 2017). Maljoja inkuboitii kolvissa, johon luotiin mikraeroofiliset olosuhteet, n. 2 vrk ajan 42 °C lämpökaapissa. Inkuboinnin jälkeen maljat luettiin ja tulkittiin työohjetta hyödyntäen (Ruokavirasto 2017).

Salmonellan viljely toteutettiin käyttäen XLD-agaria (LAB M, Suomi), mikä on Ruokaviraston työohjeen suosittelema salmonellan osoituksessa (Ruokavirasto 2014). Muutoin ohjetta sovellettiin tutkimukseen sopivaksi, eikä näytteelle tehty suoraviljelyn yhteydessä esirikastuksia. XLD-maljoja inkuboitii 18–22 h ajan 37 °C:ssa, jonka jälkeen maljat tulkittiin pesäkemorfologian perusteella työohjeen mukaisesti (Ruokavirasto 2014).



Kuva 3. Tutkimuksen rakenne kaaviokuvana.

Y. enterocolitica ja *Y. pseudotuberculosis* viljeltiin hieman muokaten Ruokaviraston ohjeiden suoraviljelyosuutta CIN-maljoille (LAB M, Suomi), joita inkuboitiin 30 °C:ssa 18–22 h ajan. (Ruokavirasto 2015, Ruokavirasto 2018b). Inkubaation jälkeen maljat tulkittiin työohjeiden mukaisesti pesäkemorfologian mukaan. Maljoja inkuboitiin huoneenlämmössä vielä 18–22 h ajan ensimmäisen tulkinnan jälkeen, minkä jälkeen maljat luettiin vielä toisen kerran (Ruokavirasto 2015, Ruokavirasto 2018b).

E. coli-bakteereita etsittiin viljelemällä ainoastaan ruokanäytteistä, sillä *E. coli* on normaalilöydös ulosteessa. Tutkimuksessa käytettiin suoraviljelyissä VRB-agaria (LAB M, Suomi), jota tulkittiin valmistajan ohjeiden mukaisesti. Nämä inkuboitiin 42 °C lämpötilassa 18–22 h. Maljalle pipetoitiin 100 µl homogenaattia, joka levitettiin kertakäyttösilrukalla ja hajotusviljeltiin (kuva 2).

4.2.2 DNA:n eristys

Tutkimuksessa eristettiin DNA näytteistä käyttäen ZR Fecal DNA MiniPrep™ -menetelmää (Zymo Research, USA). DNA eristettiin yleensä samaan aikaan useammasta näytteestä samaan aikaan sijoittaen putket telineeseen allekkain ja yksilöimällä putket sekaantumisriskin minimoimiseksi. Näytteen DNA-kontaminaation välttämiseksi työ tehtiin kumihanskat kädessä. Kaikki pipetoinnit tehtiin automaattipipeteillä. Ensimmäisenä Zymo-Spin™ IV-HRC Spin Filters -putkista katkaistiin pohjasta tappi ja putket laitettiin keräilyputkien sisään, minkä jälkeen putkia sentrifugoitiin kolmen minuutin ajan 8 000 x g.

Esirikastettua nestemäistä näytettä pipetoitiin 2 ml Eppendorf-putkiin, joita sentrifugoitiin 1 min ajan 16 000 x g. Putkista kaadettiin supernatantti pois ja tarvittaessa putkeen lisättiin uudelleen näytettä ja putkia fuugattiin uudelleen samoilla arvoilla, mikäli putken pohjalle jäänyt kiinteä pelletti oli liian pieni. Putkien pohjalle jääneet pelletit siirrostettiin steriilillä muovisilrukalla (10 µl tai 1 µl) ZR BashingBeads™ Lysis -putkiin. Tämän jälkeen putkiin lisättiin 750 µl Lysis Solution

-liuosta. Putkia sekoitettiin vortexilla täydellä teholla 7 min ajan. Sekoituksen jälkeen putkia sentrifugoitiin yhden minuutin ajan 10 000 x g. Sentrifugoiduista putkista siirrostettiin 400 µl keräilyputkissa oleviin Zymo-Spin™ IV Spin Filter -putkiin, joita sentrifugoitiin 7 000 rpm 1 min ajan. Filter-putket heitettiin pois ja keräilyputket ja niissä oleva suodos säästettiin seuraavaan vaiheeseen.

Pakkauksessa olevaan Fecal DNA Binding Bufferiin lisättiin vetokaapissa β-merkaptotoetanolia sen verran, että liuoksen β-merkaptotoetanolin pitoisuudeksi saatiin 0,5 %. Käyttövalmiiksi tehtyä Fecal DNA Binding Bufferia pipetoitiin 1 200 µl edellisessä vaiheessa säästettyihin keräilyputkiin ja sekoitettiin pipetillä varovaisesti niissä olevien suodoksien kanssa. Tätä sekoitettua liuosta pipetoitiin 800 µl keräilyputkissa oleviin Zymo-Spin™ IIC Column -putkiin, joita sentrifugoitiin 1 min ajan 10 000 x g. Suodos kaadettiin pois keräilyputkesta. Tämän jälkeen käsittely toistettiin eli Fecal DNA Binding Buffer ja suodoksen liuoksesta pipetoitiin 800 µl keräilyputkissa oleviin Zymo-Spin™ ICC Column -putkiin, joita sentrifugoitiin 1 min ajan 10 000 x g.

Zymo-Spin™ ICC Colum -putkiin pipetoitiin 200 µl DNA Pre-Wash Bufferia ja keräilyputki vaihdettiin puhtaaseen. Putkia sentrifugoitiin 1 min ajan 10 000 x g. Zymo-Spin™ ICC Column -putkiin pipetoitiin 500 µl Fecal DNA Wash Bufferia ja putkia sentrifugoitiin 1 min ajan 10 000 x g. Zymo-Spin™ ICC Column -putket siirrettiin puhtaisiin 1,5 ml Eppendorf-putkiin. Column-putkiin pipetoitiin 100 µl DNA Elution Bufferia. Putkia sentrifugoitiin 30 s ajan 10 000 x g. DNA pipetoitiin Eppendorf-putkien pohjalta Zymo-Spin™ IV-HRC Spin Filter-putkiin, jotka laitettiin uusiin 1,5 ml Eppendorf-putkiin. Näitä sentrifugoitiin 1 min ajan 8 000 x g. Eppendorf-putkissa oli lopullinen DNA-eritys ja ne siirrettiin -20 °C:een odottamaan PCR-ajoa.

4.2.3 Reaaliaikainen multiplex-PCR

Tutkimuksessa käytettiin kuvassa 3 mainittuja alukkeita. Taulukossa 8 on eritelty vielä tarkemmin käytetyt alukkeet ja haettu geenialue. Käytössä oli reaaliaikainen

PCR-menetelmä, jossa oli käytössä CFX96™ Real-Time PCR Detection System-laitte (Bio-Rad) ja CFX Manager Software™ V1.0-ohjelmisto. Eristetyt ja pakastetut DNA-näytteet sulatettiin 4 °C lämpötilassa. Näytelevyn kuoppiin pipetoitiin reagensseina kaupallista Master mix-liuosta 10 µl (iQ™ SYBRGreen Supermix, BioRad), alukkeita 2 µl, steriiliä vettä 6 µl ja näytettä 2 µl. Lopullinen tilavuus oli 20 µl. Käytetty ajo-ohjelma oli kolmivaiheinen. Ensin 10 s 95 °C, sen jälkeen 10 s 58 °C ja lopuksi 30 s 72 °C. Polymeraasi aktivoitiin ennen ajoa kuumentamalla se 3 min ajan 95 °C lämpötilassa. Ajo-ohjelman vaiheet toistettiin 40 kertaa. Ohjelmisto teki lopuksi vielä sulamiskäyräanalyysin. Ajossa käytettiin negatiivisena kontrollina steriiliä ultrapuhdasta vettä. Positiivisina kontrolleina toimivat *C. jejuni* -kannat, *ttr*-geenialueen sisältävä salmonella, *ail*-positiiviset *Y. enterocolitica*, sekä *Y. pseudotuberculosis* ja *E. coli* -kannat, jotka sisälsivät geenialueet *stx1* ja *stx2*.

Taulukko 8. Tutkimuksessa käytetyt geenialueet ja alukkeet.

Bakteeri	Geeni	Alukkeet	Lähde
<i>Campylobacter</i> spp.	<i>rrs</i>	CAMP	(Lund ym. 2004, Leblanc-Maridor ym. 2011)
<i>Salmonella</i>	<i>ttr</i>	TTR	(Malorny ym. 2004)
<i>Y. enterocolitica</i>	<i>ail</i>	10A / 9A	(Thisted Lambertz ym. 2008b)
<i>Y. pseudotuberculosis</i>	<i>ail</i>	YP1 / YP2	(Thisted Lambertz ym. 2008a)
STEC	<i>stx1</i>	STX1	(Sharma & Dean-Nystrom 2003)
	<i>stx2</i>	STX2	(Sharma & Dean-Nystrom 2003)

C. jejuni, *C. coli* ja *C. lari*-bakteereita etsittiin käyttämällä aluketta CAMP, joka kiinnittyy kampylobakteereiden geenialueeseen *rrs*. Samalla alukkeella löytyy myös muita lämpökestoisia *Campylobacter* spp. kantoja kuten *C. upsaliensis* ja *C. helveticus* (Lund ym. 2004).

Salmonellakantoja tutkittiin alukkeella TTR, mikä kiinnittyy salmonellabakteerien geenialueeseen *ttr*. Tämä aluke on spesifi salmonellan tavallisimmille serotyypeille,

mutta ei kiinnity muiden tyypillisimpien ruokamyrkytysbakteerien DNA-ketjuun (Malorny ym. 2004).

Y. enterocolitica-bakteerin PCR-ajossa käytettiin alukkeita 10A ja 9A, jotka kiinnittyvät geenialueeseen *ail*. Tämä on spesifi metodi etsiä patogeenisia *Y. enterocolitica* kantoja, sillä tällä hetkellä *ail*-geeni yhdistetään patogeenisuuteen (Thisted Lambertz ym. 2008b). *Y. pseudotuberculosis*-bakteeria etsittäessä käytettiin alukkeita YP1 ja YP2, jotka kiinnittyvät *ail*-geenialueeseen. Kyseiset alukkeet tarttuvat vain *Y. pseudotuberculosis*-bakteerien *ail*-geenialueeseen, mutta eivät *Y. enterocolitica*-bakteerin vastaavaan alueeseen (Thisted Lambertz ym. 2008a).

STEC-bakteereita etsittiin alukkeilla STX1 ja STX2, jotka ovat spesifejä *E. coli*-bakteereille, jotka erittävät shiga-toksiinia (Sharma & Dean-Nystrom 2003). Aлуке STX1 kiinnittyy geenialueeseen *sxt1* ja aluke STX2 puolestaan *stx2* geenialueeseen. Molempia tulee käyttää kaikille näytteille, sillä osa STEC-bakteereista erittää molempia toksiineja (Sharma & Dean-Nystrom 2003).

4.3 Bakteerien eristys

Selektiivisiltä maljoilta siirrostettiin yksittäisiä pesäkkeitä eteenpäin uusille selektiiviselle agarille, mikäli ne olivat morfologisesti sen näköisiä kuin kyseisellä maljalla halutun bakteerin kasvun tulisi olla. Tämän määrittelemiseen käytettiin joko työohjetta tai agarin valmistajan antamaa ohjetta. Valittu agar oli yleensä joko sama kuin ensimmäisellä viljelykerralla tai haetulle bakteerille kehitetty CHROMagar™ eli väriä tuottava agar. Taulukossa 9 on esitetty bakteerien eristyksessä käytetyt agartyypit.

Viljelemällä kasvamaan saadut morfologisesti oikealta näyttävät kannat puhdasviljeltiin vielä joko TSA- tai veriagarille (Lab M, Suomi). *Y. enterocolitica*-bakteeriepäilyt varmistettiin tekemällä urea- ja API-testit TSA-agarilta. Käytössä oli

API 20E (BioMerieux, Ranska), joka on kehitetty erottelamaan gram-negatiivisia *Enterobacteriaceae* heimoon kuuluvia bakteereita. Mikäli urea-testi oli positiivinen ja APIn tulos oli *Y. enterocolitica* sivuston apiweb™ mukaan, määritettiin vielä kyseisten bakteerien serotyyppi käyttäen kaupallista vasta-ainetta (Denka Seikan, Japan). Kaupallisilla vasta-aineilla pystyttiin erottamaan toisistaan serotyypit O:1 / O:2, O:3, O:5, O:8 ja O:9 toisistaan.

Taulukko 9. Tutkimuksessa käytetyt agartyypit.

Bakteeri	Suoraviljely	Mahdolliset jatkoviljelyt
<i>Campylobacter</i> spp.	mCCDA (modified charcoal cefoperazone deoxycholate agar)	mCCDA, CHROMagar™ Campylobacter, veriagar
Salmonella	XLD (ksyloosi-lysiini-deoksikolaatti)	XLD, CHROMagar™ Salmonella
<i>Y. enterocolitica</i> ja <i>Y. pseudotuberculosis</i>	CIN (kefsulodiini-irgasaani-novobiosiini)	CIN, CHROMagar™ <i>Y. enterocolitica</i> , TSA (tryptoni-soija-agar), veriagar
STEC	VRB (violettipuna-sappi)	VRB, CHROMagar™ STEC

Bakteerikannat siirrettiin puhdasviljelmältä säilytykseen niin sanottuihin helmiputkiin, joissa ne pakastetaan. Nämä työvaiheet tehtiin mahdollisimman puhtaasti, ettei kontaminoitu säilytysputkien helmiä ja samalla puhtaaksi viljeltyä kantaa. Siirrosta varten oli viljelty puhdasviljelämä CIN-maljalta veriagarille, jota oli inkuboitu 30 °C lämpötilassa 18–22 h ajan. Säilytykseen kerättiin steriilillä 10 µl silmukalla bakteerimassaa agarilta, joka jaettiin suunnilleen tasan kahteen eri helmiputkeen. Putket suljettiin ja vorteksoitiin huolella. Niiden annettiin olla lappeellaan pöydällä muutaman minuutin ajan, jotta bakteerit ehtisivät kiinnittyä helmiin. Tämän jälkeen putkissa valmiiksi ollut neste imettiin putkista pois steriilillä lasisella pasteurpipetillä. Putket säilöttiin -70 °C:ssa.

Kampylobakteereita eristettiin vielä uudelleen tutkimuksen loppuvaiheessa kaikista PCR-positiivisista ruoka- ja ulostenäytteistä käyttäen pakastimessa olleita glyserolisäilytyksiä, jotka oli esirikastettu ennen säilytystä. Tässä vaiheessa bakteerien eristys tehtiin kolmella eri tavalla. Näytteistä tehtiin suoraviljely mCCDA-agarille ja inkubointi kuten aiemminkin. Suoraviljelyn lisäksi näytteistä tehtiin selektiivinen rikastus Bolton-liemessä Ruokaviraston työohjetta mukaillen (Ruokavirasto 2017). Rikastetut näytteet viljeltiin mCCDA-agarille, inkuboitiin 2 vrk ajan mikroaerofiilisesti 37 °C:ssa ja mahdolliset lupaavat kasvustot varmistettiin viljelemällä veriagarille, jolta tehtiin varmistustestit, mikäli kasvusto oli morfologisesti sopivaa. Varmistus tehtiin gram-värjäyksellä ja mikroskopoimalla. Bolton-liemessä rikastetuista näytteistä tehtiin myös viljelyt veriagarille nitroselluloosa membraanin (0,65 µm DAWP, Millipore, Irlanti) avulla. Membraani asetettiin veriagarin pinnalle välttämättä kontaminaatiota. Membraanin pinnalle pipetoitiin yhteensä 200 µl Bolton-liemirikastetta kuutena pisarana ja inkuboitiin 2 h 5 °C. Tämän jälkeen membraani poistettiin ja maljat siirrettiin mikroaerofiiliseen kolviin ja inkuboitiin 2 vrk ajan 37 °C:ssa. Tämän jälkeen lupaavat pesäkkeet varmistettiin kuten mCCDA-agarilta siirrostetut pesäkkeet veriagarilta.

Lopuksi kampylobakteereita yritettiin eristää vielä kertaalleen tuoreista ulostenäytteistä, joilla ei ollut vastaavaa ruokanäyteparia eikä niistä tutkittu muuta kuin kampylobakteereita. Näitä kahta näytettä ei tutkittu lainkaan PCR-menetelmällä, sillä oletuksena oli kissojen edelleen erittävän kampylobakteeria edelleen ulosteeseensa aiempien noin puolen vuoden ajalta kerättyjen positiivisten ulostenäytetulosten perusteella. Tavoitteena oli saada eristettyä kampylobakteerilaji tuoreesta ulostenäytteestä. Ulostenäytteet rikastettiin Bolton-liemessä, jonka jälkeen ne viljeltiin mCCDA-agareille. Agarit inkuboitiin 2 vrk ajan 37 °C:ssa mikroaerofiilisesti. Jatkoviljely tehtiin veriagareille, joita inkuboitiin samassa lämpötilassa mikroaerofiilisesti yhtä pitkään. Veriagarilta kasvu varmistettiin kampylobakteeriksi gram-värjäyksellä ja mikroskopoimalla. Positiivinen tuloksen laji varmistettiin vielä Eläinlääketieteellisen tiedekunnan kliinisessä laboratoriossa MALDI-TOF-massaspektrometrilaitteella.

5. TULOKSET

Tutkimuksessa reaaliaikaisella PCR-menetelmällä monistettiin taulukossa 8 mainittujen bakteereiden tyypillisiä geenialueita. Saatu PCR-tulos tulkittiin positiiviseksi, mikäli näytteen sulamislämpö oli positiiviseen kontrolliin verrattuna $\pm 0,5$ °C. Näytteen C_q (cycle quantification) -arvon piti samanaikaisesti olla pienempi kuin 39 sykliä. PCR-menetelmän haasteena on, että se kertoo vain sen, onko näytteessä haettua geenialuetta. Menetelmä ei erottele onko tuloksena saatu geenialue peräisin elävästä vai kuolleesta bakteerista tai irrallaan esimerkiksi bakteerifaagissa.

PCR-menetelmällä saadut tulokset on esitetty taulukossa 10. Ruokanäytteistä eniten positiivisia PCR-tuloksia saatiin kampylobakteereista ja STEC-bakteereista. *Y. enterocolitica*- tai *Y. pseudotuberculosis* -bakteereita löytyi lähes yhtä paljon PCR-menetelmällä. Ulostenäytteistä yhteensä 74 % oli kampylobakteeriposiitivisia, mikä oli huomattavasti suurempi esiintyvyys kuin millään muulla tutkimuksessa etsityllä bakteerilla. Ruokanäytteistä kampylobakteeriposiitivisia oli puolestaan 15 %. Salmonellaa löytyi vain yhdestä ruokanäytteestä ja kahdesta ulostenäytteestä. Salmonellalöydös ruoasta ei kuitenkaan ajallisesti yhdistynyt kissojen positiivisiin ulostenäytetuloksiin. PCR-positiiviset ulostenäytteet olivat kesäkuussa otetuissa näytteissä ja positiivinen raakalihanäyte oli kerätty saman vuoden lokakuussa. Muutenkaan tutkimuksessa ei havaittu toistuvaa ajallista yhteyttä positiivisten ruoka- ja ulostenäytteiden välillä. Ainoastaan yhden kerran löytyi mahdollinen yhteys syödyn ruoan ja ulostenäytteen PCR-positiivisuuksien välillä. Kissan A ulostenäytteet olivat kahdesti peräkkäisissä näytteissä STEC-positiivisia. Näytteet oli otettu kahden päivän välein ja näistä ensimmäisen ulostenäytteen vastinruokanäyte oli STEC-positiivinen. Ruokanäyte, joka oli otettu kaksi viikkoa aiemmin, oli ollut myös STEC-positiivinen. Kissalta A ei saatu ulostenäyteparia tuolle aiemmalle ruokanäytteelle. Kissa B oli kaikissa kolmessa näytteessä STEC-

negatiivinen. Kuuden päivän kuluttua otetussa ulostenäytteessä kumpikin kissa oli jälleen STEC-negatiivinen.

Taulukko 10. Tutkimuksen PCR-positiiviset näytteet

Näytteiden lkm	<i>rrs</i> (%) <i>Campylobacter</i> spp.	<i>ttr</i> (%) Salmonella	<i>ail</i> (%) <i>Y.</i> <i>enterocolitica</i> / <i>Y.</i> <i>pseudotuberculosis</i>	<i>stx1/stx2</i> (%) STEC
48 (ruoka)	7 (14,6%)	1 (2,1%)	5 (10,4%)	7 (14,6%)
73 (uloste)	54 (74,0%)	2 (2,7%)	2 (2,7%)	3 (6,3%)

Taulukossa 11 on esitetty PCR-positiiviset tulokset lajiteltuna lihalajin mukaan. Kampylobakteereita löytyi tasaisesti kaikista lihalajeista, suhteessa näytemäärään vähiten broilerinlihasta. Kategoriassa "Muu", on erilaisia lihasekoituksia, joiden raaka-aineena oli broilerin liha ja jokin muu lihalaji, tavallisimmin naudan tai sianliha. Siipikarjan lihaa (broileri ja kalkkuna) oli tutkittavana kappalemääräisesti eniten, kun taas niin sanottua punaista lihaa tutkittiin lukumäärällisesti huomattavasti vähemmän. Osa näytteistä sisälsi useampaa kuin yhtä bakteerilajia PCR-ajon tulosten perusteella. Yhteensä kolmesta raakalihanäytteestä löytyi kahta eri bakteeria PCR-menetelmän mukaan. Kahdessa näytteessä oli kampylobakteeri ja STEC. Yhdestä näytteestä löytyi sekä salmonella että *Y. pseudotuberculosis*.

Taulukko 11. Ruokanäytteiden tulokset jaoteltuna pääraaka-aineen mukaan

Pääraaka-aine	<i>rrs</i> (kampylob.)	<i>ttr</i> (salm.)	<i>ail</i> (YE, YP)	<i>stx1/stx2</i> (STEC)
Siipikarja (n=27)	1	1	5	3
Sika (n=7)	1	0	0	1
Nauta (n=5)	3	0	0	2
Sika-nauta (n=5)	2	0	0	1
Muu (n=4)	0	0	0	0

Tutkimuksen aikana tutkittiin sekä lemmikkien rehuksi tarkoitettuja raakoja lihavalmisteita, että päivittäistavarakaupoista hankittuja ihmisille tarkoitettuja raakalihavalmisteita. Päivittäistavarakaupoista hankitut tuoreet raakalihavalmisteen sisälsivät vain lihaa, eivätkä esimerkiksi lisättyä suolaa tai marinadia. Nämä pakkaukset eivät olleet pakastettuja vaan viileässä myynnissä olleita tuotteita. Erittely tuloksia jaoteltuna lihan käyttötarkoituksen mukaan on esitetty taulukossa 12. Bakteerien määrässä ei ollut havaittavissa merkittäviä eroja eri ryhmien välillä. Tutkimuksen ainoa salmonellapositiivinen näyte oli ihmisravinnoksi myytävää broilerin jauhelihaa. STEC-bakteereita löytyi tutkimuksessa ainoastaan lemmikkien rehusta.

Taulukko 12. Ruokanäytteiden tulokset jaoteltuna lemmikin rehuihin ja ihmisravinnoksi tarkoitettuihin lihavalmisteesiin

Lihan tyyppi	<i>rrs</i> (kampylob.)	<i>ttr</i> (salm.)	<i>ail</i> (YE/YP)	<i>stx1</i> / <i>stx 2</i> (STEC)
Eläimen rehu (n=38)	4	0	3	7
Ihmisravinto (n=10)	3	1	2	0

Ulostenäytteet tutkittiin vastaavasti kuin ruokanäytteet. Tulokset jaoteltuna kissakohtaisesti on esitetty taulukossa 13. Ulostenäytteitä oli kissoista eri määrä, sillä toinen kissa tuli 14-viikkoisena pentuna samaan talouteen kesken tutkimuksen. Kissa B oli lähes koko tutkimuksen ajan kampylobakteeriposiitivinen (27/28 näytettä) ja kissa A oli pennun tultua taloon myös koko loppututkimuksen ajan PCR-positiivinen (27/27 näytettä). Kissan A ulosteesta löytyi kerran positiivinen tulos PCR-menetelmällä ennen kissan B tuloa talouteen. Tällöin kissa A oli ollut ripulilla ja ulostenäyte oli ripulia. Muut tutkimuksen aikana kerätyt ulostenäytteet olivat kiinteitä.

Taulukko 13. Ulostenäytteiden PCR-tulokset

Kissa	<i>rrs</i> (%)	<i>ttr</i> (%)	<i>ail</i> (%) <i>Y.</i>	<i>stx1</i> / <i>stx2</i> (%)
	<i>Campylobacter</i>	Salmonella	<i>enterocolitica</i> / <i>Y.</i>	STEC
	spp.		<i>pseudotuberculosis</i>	
A (n=45)	27 (60,0%)	1 (2,2%)	2 (4,4%)	2 (4,4%)
B (n=28)	27 (96,4%)	1 (3,6%)	0 (<1%)	1 (3,6%)

PCR-menetelmän lisäksi saatiin viljelemällä eristettyä *Y. enterocolitica*, joka tyypitettiin puhdasviljelmästä biotyypiksi 4 ja käyttäen kaupallista vasta-ainetta (Denka Seikan, Japan) serotyypiksi O:3. Viljelemällä saatiin eristettyä *Y. enterocolitica* bioserotyyppi 4/O:3 kahdesta ulostenäytteestä. Ruoasta ei kuitenkaan löytynyt viljelyllä tai PCR-menetelmällä samoihin aikoihin ainuttakaan *ail*-positiivista tulosta. Kampylobakteeriposiitivisista ulostenäytteistä ei saatu kappaleessa 4.3 kuvailluilla eristysmenetelmillä kasvamaan kampylobakteereita. Tämän takia kampylobakteeria lähdettiin eristämään tuoreista ulostenäytteistä, joita ei tutkittu PCR-menetelmällä, eikä niistä etsitty muita bakteereita. Tällä menetelmällä (kuvattu tarkemmin kappaleessa 4.3) saatiin kampylobakteeri kasvamaan molempien kissojen ulostenäytteistä. Kyseisen kampylobakteerilaji oli MALDI TOF-laitteella tehdyn lajimäärityksen perusteella *C. helveticus*.

6. POHDINTA

Tutkimusta kotimaisen lihan mikrobiologisesta laadusta, enimmäkseen ihmisravinnoksi tarkoitettusta, on tehty Suomessa paljon. Kuitenkin lemmikkien raakaruokaan keskittyvää tutkimusta on niukasti. Lemmikkien raakaruoka on lainsäädännön kannalta lemmikkieläinten rehua, joka saa sisältää luokan 3 sivutuotteita (Ruokavirasto 2019b). Luokan 3 sivutuotteisiin lukeutuu pääosin ruhonosia, jotka ovat syystä tai toisesta ihmisravinnoksi kelpaamattomia, vaikka

eläimen muu ruho hyväksyttäisiin. Tällaisia ovat esimerkiksi useat sisäelimet, likaantuneet ruhonosat, naudan sorkat, luut ja veri (EY 1069/2009). Lemmikkien rehua voitaneen pitää tältä osin mikrobiologiselta laadultaan hyvin lähellä ihmisravinnoksi kelpaavaa lihaa ainakin teurastamolta käsittelylaitokseen siirtyessään. Kuitenkin ihmisravinnoksi hyväksytystä lihasta on löytynyt tautia aiheuttavia bakteereita vaihtelevia määriä (EFSA 2016). Tämän takia tutkimusta aloitettaessa yksi hypoteeseista oli, että lemmikkien raakaruosta löytyisi jonkin verran patogeenisiä bakteereita. Ulkomaalaisissa lemmikkien raakaruokatutkimuksissa on pääosin keskitytty salmonellan esiintyvyyteen, joka on Suomessa erittäin harvinainen löydös kotimaisessa lihassa tai tuotantotiloilla (EFSA 2016).

Tutkimuksessa saatujen tulosten perusteella voidaan todeta, että kotimaisessa lihassa esiintyy tautia aiheuttavia bakteereita. Melkein puolet raakaruokanäytteistä (42 %) sisälsi jotain tutkimuksessa haettua bakteeria PCR-menetelmän perusteella. Viljelemällä epäselektiivisellä esirikastuksella saatiin kasvamaan 4 % näytteistä zoonoottinen patogeeninen *Y. enterocolitica* bioserotyyppi 4/O:3-bakteeri. Tutkielman toisessa hypoteesissa oletettiin, että suurimmat esiintyvyydet olivat kampylobakteereilla sekä *Y. enterocolitica*- ja *Y. pseudotuberculosis*-bakteereilla. Kuitenkin tutkimuksessa suurimmat esiintyvyydet olivat kampylobakteereilla ja STEC-bakteereilla. Hypoteesi oli osin oikea. Salmonellaa kotimaisessa lihassa ei kuitenkaan ole juuri lainkaan verrattuna muualla maailmassa tehtyihin tutkimuksiin, jossa salmonellan esiintyvyys lihassa on esimerkiksi eräässä yhdysvaltalaisessa tutkimuksessa ollut 46–83 % (Chengappa ym. 1993). Tämä havaittiin myös tässä tutkimuksessa, sillä salmonellan esiintyvyys oli matala sekä raa'assa lihassa että kissojen ulostenäytteissä. Ruokanäytteissä salmonellan esiintyvyys oli 2 % ja ulostenäytteissä 3 %.

Mielenkiintoista PCR-tuloksissa oli se, että sianlihasta ei löytynyt ainuttakaan *Y. enterocolitica*-bakteeria. Kuitenkin taulukossa 4 koottujen tartuntalähteiden mukaan lihatuotteista sianliha on tutkimusten mukaan todennäköisin

tartuntalähde. Kaikki havaitut *Y. enterocolitica*-bakteerit olivat näytteissä, jotka sisälsivät valmisteyhteenvedon mukaan ainoastaan siipikarjaa. Toinen vastoin odotuksia löytynyt bakteeri oli *Campylobacter* spp. Kuvassa 1 koottujen tavallisimpien tartuntalähteiden mukaan oli odotettavissa, että kampylobakteereita löytyisi nimenomaan broilerin lihasta. Kuitenkin vain 1/27 siipikarjanlihanäytteistä oli PCR-positiivisia, kun koko näytemäärästä positiivisia näytteitä oli 7/48. Nämä voivat hyvin johtua teurastamolla tai eläinrehulaitoksessa valmistusvaiheessa tapahtuneesta ristikontaminaatiosta. Kampylobakteerien esiintyvyys on Suomessa korkeampi nautojen ja sikojen ulosteessa kuin siipikarjan ulosteessa (Hakkinen ym. 2007, Evira 2016). Kuitenkin broilerinlihasta löytyy enemmän kampylobakteereita kuin sian- tai naudanlihasta (Evira 2016). Tämä ero johtuu ainakin osin siitä, että broilerinliha säilyy prosessin aikana kosteampana ja kampylobakteeri menestyy huonosti kuivan sian- ja naudanlihan pinnalla (katsauksessa Bolton 2015). Tämä kampylobakteerin herkkyys kuivuudelle voi olla yksi syy, miksi kissojen ulostenäytteistä ei löytynyt viljelemällä kampylobakteereita. Kissojen hiekkalaatikossa käytetty kissanhiekka oli mikrohiekkaa, joka imee tehokkaasti kosteutta.

Tutkimuksen tuloksissa eriteltiin ruokanäytteet raakalihavalmisteiden käyttötarkoituksen perusteella. STEC-bakteerien esiintyvyys oli ihmisravinnoksi tarkoitetuissa lihavalmisteissa erittäin vähäinen, sillä ainoastakaan näytteestä ei niitä löytynyt. Lemmikkien rehuina myytävissä STEC-bakteereita havaittiin PCR-menetelmällä seitsemässä näytteessä. Yksi syy voi olla, että luokan 3 sivutuotteet ovat useammin saastuneet ulosteella kuin ihmisravinnoksi tarkoitettu liha. Muiden bakteerien osalta ei juuri voida tehdä johtopäätöksiä, sillä näytemäärät olivat niin erilaiset. Lemmikkien rehuiksi tarkoitettuja raakalihavalmisteita oli tutkimuksessa 38 kpl ja ihmisravinnoksi tarkoitettuja 10 kpl. Lemmikkien rehuina myytävissä raakalihavalmisteissa oli enemmän löydöksiä, mutta myös näytemäärä oli suurempi. Salmonella oli ainoa, jota löytyi vain ihmisravinnoksi tarkoitettusta ruoasta, mutta yhdestä positiivisesta PCR-tuloksesta ei voi juuri luotettavasti johtopäätöksiä vetää.

Hypoteesi, ettei sisäkissojen ulosteesta juurikaan löytyisi tautia aiheuttavia bakteereita, osoittautui vääräksi. Kissa A eritti tutkimuksen aikana kerran kampylobakteeria ulosteeseensa ennen kuin kissan B muutti talouteen. Tämän yhden kampylobakteerilöydöksen lisäksi kissa A eritti tutkimuksen aikana viidesti jotain etsittyä bakteeria ja kokonaisnäytemäärä oli 45 kpl. Kissa B eritti tutkimuksen aikana koko ajan kampylobakteeria ja kahdesti jotain muuta etsittyä bakteeria ja kokonaisnäytemäärä oli 28 kpl. Aiemmin tehdyissä tutkimuksissa kampylobakteereiden esiintyvyys kissojen ulostenäytteissä on ollut eri maissa 5–69 % (taulukko 2). Tutkimuksissa ei tosin ole yleensä seurattu yksittäisiä kissoja pidempää ajanjaksoa vaan yksittäisiä ulostenäytteitä on otettu isolta populaatiolta. Tutkimuksessa jäi osin avoimeksi se, miksi molemmat kissat erittivät välillä toukokuu 2016 – marraskuu 2016 kampylobakteeria PCR-tuloksen mukaan ulosteessaan. Tällä välillä oli vain yksi ulostenäyte, joka oli PCR-negatiivinen. Oletettavaa on, että kissa B aiheutti tämän ja luultavimmin se oli saanut tartunnan jo pentuna. Toinen mahdollisuus on, että kissa A oli jäänyt latentiksi kantajaksi kampylobakteerille oltuaan kerran PCR-positiivinen ja uuden kissan tulo talouteen aiheutti stressiä, mikä sai kissan erittämään kampylobakteeria ulosteeseensa ja tartutti nuoremman kissan. Kuitenkin kissat pesivät toisiaan jo parin viikon yhteiselon jälkeen, joten oletettavaa on, ettei uusi kissa aiheuttanut enää stressiä vanhemmalle. Samaa sosiaalista ryhmää olevat kissat tyypillisesti pesevät toisiaan. Mikäli ne eivät olisi samaa sosiaalista ryhmää, niin krooninen stressi olisi mahdollista (kirjassa Bowen & Heath 2005). Tämän takia voidaan olettaa kissan B saaneen tartunnan jo pentuna kasvattajan luona. Kuitenkin mistä kissa on alkuperäisesti tartunnan saanut, jäi avoimeksi. Kiinnostavaa on myös se, mihin kampylobakteeri on suolistossa jäänyt, kun erityis vaikuttaisi tutkimuksen perusteella olleen jatkuvaa. Olisi kiinnostavaa tietää, miten suuri tartuntariski omistajalleen on kissa, joka erittää *C. helveticus*-bakteeria ulosteeseensa. Se voi kuitenkin ihmiselläkin aiheuttaa tautia (katsauksessa Acke 2018).

Kampylobakteereita oli mahdotonta arvioida PCR-tulosten perusteella kissan B saapumisen jälkeen, varsinkin kun mitään ei saatu näytteistä kasvamaan agarmaljoilla, jolloin olisi voitu tutkia kantoja tarkemmin. Oletettavasti molemmat

kissat ovat kissan B tulon jälkeen erittäneet ulosteessaan *C. helveticus*-bakteeria, mikä saatiin kasvamaan alle 1 vrk ennen käsittelyä kerätyistä pakastamattomista ulostenäytteistä. *C. helveticus*-bakteeria on löydetty Irlannissa tehdyssä tutkimuksessa esimerkiksi sian ulosteesta ja myös sian ruhoista. Kuitenkaan kaupasta hankituista raakalihavalmisteista ei tutkimuksessa kyseistä bakteeria löydetty (Scanlon ym. 2013). On siis mahdollista, että kissa B olisi voinut saada infektion raakaruoasta. Sitä oli jo pienenä pentuna ruokittu raakaruoalla, kuten toisaalta myös kissaa A. Kuitenkaan vanhempi kissa ei ollut tutkimuksen alkaessa kampylobakteeriposiitivinen. Sekin oli vielä nuori kissa tutkimuksen alkaessa (7 kk ikäinen).

Ainoat viljelemällä saadut positiiviset ulostenäytteet olivat *Y. enterocolitica*-positiivisia, mutta kuitenkin samaan aikaan ei ruoassa ollut positiivisia PCR-tuloksia. Viljelyllä positiiviset *Y. enterocolitica* löydökset osuivat ajankohtaan, kun kissa A tuhosi kaktuksen ja söi sekä multaa että itse kaktusta. Tämä ei kuitenkaan ole luultavin tartuntalähde, sillä kyseinen bakteeri tyypitettiin bioserotyypiksi 4/O:3. Tämä kyseinen bioserotyyppi esiintyy pääasiallisesti vain sioissa ja sianlihassa (taulukko 3). Jyrsijät on mainittu yhdeksi mahdolliseksi lähteeksi, mutta kissa on sisäkissa, eikä ole päässyt saalistamaan itsenäisesti. Asuinhuoneisto oli kerrostalossa kaupungissa, jossa ei ollut havaittu jyrsijäongelmaa. Yksi mahdollinen syy, miksi yhteyttä ei saatu luotua, oli että tutkimuksessa kerättiin ulostenäyte noin vuorokauden kuluttua ruoan syömisestä. Tämä aika olisi voinut olla pidempi tai ulostenäytteitä olisi voitu ottaa useampia muutaman päivän ajan. Lisäksi jokaisesta ruoasta, joita kissat söivät tutkimuksen ei ollut otettu näytettä systemaattisesti. On hyvin mahdollista, että raakaruoka, joka on ollut aiheuttajana ulostenäytteen positiiviseen PCR-tulokseen, on vain jäänyt tutkimatta. On myös mahdollista, että eläinruokalaitoksella on tapahtunut ristisaastutus eri tuotteiden välillä. Tutkimuksessa ei saatu yhteyttä ruoassa ja ulosteessa eritettyjen bakteerien välille. STEC-bakteeria löytyi kerran sekä raakaruoasta, että ulostenäytteistä samalla ajanjaksolla. Tästä ei kuitenkaan voida tehdä vielä mitään pitäviä johtopäätöksiä.

Tutkimuksessa olisi voinut olla laajempi materiaali. Useampi raakaruokaa syövä kissa olisi tuonut lisää tutkimusmateriaalia. Tutkimukseen olisi ollut syytä valita kissoja, jotka eivät tutkimuksen alkaessa ole kampylobakteeriposiitivisia. Tutkimuksessa kissan B jälkeen PCR-tulokset ulosteesta ovat kampylobakteerin suhteen vähäinformatiivisia, sillä lähes kaikki ulostenäytteet olivat positiivisia. Ruoasta on tuona aikana löytynyt useampikin positiivinen PCR-tulos, mutta positiivisen ulostenäytteen ei voida tulkita johtuvan ruoan kampylobakteerista. Viljelemällä olisi voitu erottaa onko ulostenäytteessä samaa kantaa kuin ruoassa, mutta kampylobakteeri kasvoi huonosti tutkimuksen aikana. Edes kampylobakteereille tarkoitettulla rikastusmenetelmällä ei saatu mitään kasvamaan PCR-positiivisista ruoka- tai ulostenäytteistä. Ainoastaan lähes tuoreesta ja pakastamattomasta ulosteesta saatiin rikastusmenetelmin kasvamaan kampylobakteeri. Mielenkiintoista olisi ollut selvittää näyttemateriaalista antibiooteille resistenttien bakteerien esiintyvyys. Varsinkin ESBL-ominaisuuden (extended spectrum beta-lactamases) sisältäviä *E. coli* -bakteereita olisi ollut kiinnostavaa tutkia. Antibioottiresistenssi on kasvava ongelma ja kotimaisesta broilerinlihasta on tutkimuksissa löytynyt ESBL-bakteereita noin 8 %, mutta Euroopan keskiarvo oli melkein 60 % vuonna 2016 (EFSA 2018b). Lisätutkimusta vaadittaisiinkin laajemmalla tutkimuspopulaatiolla, jotta tuloksista voisi vetää kovin varmoja johtopäätöksiä. Lisätutkimusta vaadittaisiin myös muiden riskien osalta. Tässä tutkimuksessa keskityttiin vain neljän bakteeriryhmän muodostamaan riskiin. Kuitenkin muitakin tautia-aiheuttavia bakteereita tai loisia voi esiintyä lihassa. Tutkimukseen olisi ollut mielenkiintoista lisätä kontrolliryhmäksi kissoja, jotka eivät ole syöneet elämänsä aikana raakaruokaa tai saalistaneet ravintoa itselleen. Lisätutkimuksia vaadittaisiin etenkin *C. helveticus*-bakteerin osalta. Sen esiintyvyys raakalihatuotteissa olisi hyvä tutkia, jotta sen tartuntareitti kissan voitaisiin saada selville ja mahdollisesti estää. Bakteeri vaikuttaisi kykenevän jäämään kissan suolistoon pitkäksi ajaksi ja se on mahdollinen patogeeni ihmisille. THL:n tartuntatautien vuosiraportissa kerrotaan vuonna 2017 olleen 4 289 kampylobakteeritartuntaa. Se erottelee vain lajit *C. jejuni* ja *C. coli*. Lajia ei määritetty 128 tapauksessa. Raportin antamien tietojen perusteella laji olisi määritetty 172 tapauksessa, mutta lajimääritystä ei kerrota (THL 2018b). Sitä miten lajimääritys on tehty ja mitä lajeja on ylipäättään etsitty ei kerrota. Olisi kiinnostavaa tietää

mahtuuko tuohon 172 tapauksen joukkoon *C. helveticus*-bakteerin aiheuttamia tartuntoja ja kuinka monta. On myös mahdollista, että *C. helveticus* tartunnat lukeutuvat kategoriaan, jossa lajia ei ole määritetty. Lienee kuitenkin mahdollista, että näiden 172 määritellyn tai 128 määrittelemättömän kampylobakteeritartunnan joukkoon mahtuisi *C. helveticus*-bakteeritartuntoja.

Tutkimuksen kokeellisen osuuden ja tehdyn kirjallisuuskatsauksen perusteella voidaan tehdä johtopäätös, että raakaruokinta on aina jonkinasteinen riski sekä lemmikin että omistajien terveydelle. Tämä tulisi ottaa huomioon ja pitää huoli, ettei lemmikille ruokaa tarjotessaan vahingossa kontaminoi omaa ruokaa. Raakaruokaa syövän lemmikin ulosteeseen tulisi aina suhtautua mahdollisena tartuntalähteenä. Tutkimuksessa saatiin kissojen ulosteesta kasvamaan patogeeninen *Y. enterocolitica* 4/O:3, vaikka uloste oli ensin kuivunut hiekkalaatikossa ja ollut sen jälkeen pakastimessa. Tämä bakteeri saatiin kasvamaan myös ilman esirikastusta. Feko-oraalinen tartunta on aivan mahdollinen, varsinkin, jos käsi- tai keittiöhygienia on puutteellista tai kissa esimerkiksi ripuloi matolle, jolla pieni lapsi konttaa. Riskiryhmiin kuuluvien ihmisten ei ole suositeltavaa ruokkia lemmikkejään raakaruoalla. Riskiryhmiin voidaan lukea kaikki heikomman immuunipuolustuksen omaavat ihmiset eli esimerkiksi pienet lapset, vanhukset, raskaana olevat, diabeetikot, syöpää sairastavat (erityisesti hoitojen aikana) tai AIDS-potilaat (katsauksessa Angulo ym. 1995, katsauksessa Stull ym. 2015). Olisi suositeltavaa, että riskiryhmiin kuuluvat eivät ruokkisi lemmikkejään raakaruoalla lainkaan tai vaihtoehtoisesti kypsensäisivät lihan kunnolla ennen ruokintaa. Raakaruokinta ei ole terveelle ihmiselle merkittävä riski, mutta olisi tärkeää huomioida lemmikin kontaktit mahdollisesti riskiryhmään kuuluviin ihmisiin. Esimerkiksi sairaaloissa tai vanhainkodeissa vieraileville lemmikeille ei ole suositeltavaa antaa raakaruokaa. Raan lihan lisäksi lemmikki voi saada tartunnan esimerkiksi kuivatuista herkuista. Irlannissa tehdyssä tutkimuksessa tutkittiin 102 kpl kuivattuja sian korvia ja 28 % näistä sisälsi salmonellaa (Adley ym. 2011). Kanadassa tehtiin vastaava tutkimus, jossa tutkittiin 94 kuivattua sian korvaa. Näistä 48 kpl (51 %) oli salmonellaposiitivisia. Samalla tutkittiin myös muita lemmikkien herkuja, joita oli yhteensä 39 kpl, ja näistä 15 kpl (39 %) todettiin salmonellaposiitivisiksi (Clark ym.

2001). Itse raakaruohan lisäksi tulisi muistaa myös herkkujen mahdollisesti muodostama riski.

7. KIITOKSET

Haluaisin kiittää työni johtajaa ja ohjaajaa professori Maria Fredriksson-Ahomaata saamastani avusta ja kärsivällisyydestä tutkielman tekemisen aikana. Lisäksi haluaisin kiittää eläinlääketieteellisen tiedekunnan laboratoriomestareita Maria Starkia ja Urszula Hirveä. Maria oli korvaamaton apu laboratoriotöiden teossa ja Urszulalle erityiskiitos avusta kampylobakteerien kanssa. Haluan kiittää myös koe-eläimiäni Niiaa ja Armia, jotka ystävällisesti söivät tarjottua ruokaa ja mahdollistivat tutkimuksen teon.

KIRJALLISUUSLUETTELO

Acke E, McGill K, Golden O, Jones B, Fanning S, Whyte P. Prevalence of thermophilic *Campylobacter* species in household cats and dogs in Ireland. *Vet Rec* 2009, 164: 44-47.

Acke E, Whyte P, Jones B, McGill K, Collins J, Fanning S. Prevalence of thermophilic *Campylobacter* species in cats and dogs in two animal shelters in Ireland. *Vet Rec* 2006, 158: 51-54.

Acke E. *Campylobacteriosis* in dogs and cats: a review. *N Z Vet J* 2018, 66: 221-228.

Ackers M, Mahon B, Leahy E, Goode B, Damrow T, Hayes P, Bibb W, Rice D, Barrett T, Hutwagner L, Griffin P, Slutsker L. An outbreak of *Escherichia coli* O157 : H7 infections associated with leaf lettuce consumption. *J Infect Dis* 1998, 177: 1588-1593.

Adley C, Dillon C, Morris C, Delappe N, Cormican M. Prevalence of *Salmonella* in pig ear pet treats. *Food Res Int* 2011, 44: 193-197.

Angulo F, Glaser C, Juranek D, Lappin M, Regnery R. Caring for Pets of Immunocompromised Persons (Reprinted from *J Am Vet Med Assoc*, Vol 205, Pg 1711-1718, 1994). *Can Vet J -Rev Vet Can* 1995, 36: 217-222.

Baede V, Broens E, Spaninks M, Timmerman A, Graveland H, Wagenaar J, Duim B, Hordijk J. Raw pet food as a risk factor for shedding of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in household cats. *PLoS One* 2017, 12: 1-11.

Baker J, Barton M, Lanser J. *Campylobacter* species in cats and dogs in South Australia. *Aust Vet J* 1999, 77: 662-666.

Barker J, Bloomfield S. Survival of *Salmonella* in bathrooms and toilets in domestic homes following salmonellosis. *J Appl Microbiol* 2000, 89: 137-144.

Behravesh C, Ferraro A, Deasy M, Dato V, Moll M, Sandt C, Rea N, Rickert R, Marriott C, Warren K, Urdaneta V, Salehi E, Villamil E, Ayers T, Hoekstra R, Austin J, Ostroff S. Human *Salmonella* Infections Linked to Contaminated Dry Dog and Cat Food, 2006-2008. *Pediatrics* 2010, 126: 477-483.

Bell B, Goldoft M, Griffin P, Davis M, Gordon D, Tarr P, Bartleson C, Lewis J, Barrett T, Wells J, Baron R, Kobayashi J. A multistate outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 associated bloody diarrhea and hemolytic-uremic-syndrome from hamburgers - the Washington experience. *J Am Med Assoc* 1994, 272: 1349-1353.

Bergman M, Chafel R, Meccas J. *Yersinia*. Teoksessa: Gyles, C, Prescott, J, Songer, J, Thoen, C (toim.) Pathogenesis of bacterial infections in animals. 4 p. Blackwell Publishing, Iowa, USA 2010: 309-323.

Bigler R, Atkins R, Wing E. *Yersinia enterocolitica* lung infection. Arch Intern Med 1981, 141: 1529-1530.

Billinghurst I. The Barf Diet: Raw feeding for dogs and cats using evolutionary principles. 1 p. Warrigal Publishing, NSW Australia 2001.

Bojanic K, Midwinter A, Marshall J, Rogers L, Biggs P, Acke E. Isolation of *Campylobacter* spp. from client-owned dogs and cats, and retail raw meat pet food in the Manawatu, New Zealand. Zoonoses Public Health 2017, 64: 438-449.

Bolton D. *Campylobacter* virulence and survival factors. Food Microbiol 2015, 48: 99-108.

Bonardi S, Bruini I, D'Incau M, Van Damme I, Carniel E, Bremont S, Cavallini P, Tagliabue S, Brindani F. Detection, seroprevalence and antimicrobial resistance of *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis* in pig tonsils in Northern Italy. Int J Food Microbiol 2016, 235: 125-132.

Boqvist S, Pettersson H, Svensson A, Andersson Y. Sources of sporadic *Yersinia enterocolitica* infection in children in Sweden, 2004: a case-control study. Epidemiol Infect 2009, 137: 897-905.

Bottone E. *Yersinia enterocolitica*: overview and epidemiologic correlates. Microb Infect 1999, 1: 323-333.

Bouza E, Dominguez A, Meseguer M, Buzon L, Boixeda D, Revillo M, Rafael L, Martinez-Beltran J. *Yersinia enterocolitica* septicemia. Am J Clin Pathol 1980, 74: 404-409.

Bowen J, Heath S. Behaviour problems in small animals. 1 p. Elsevier Ltd, Philadelphia 2005.

Bucher M, Meyer C, Groetzbach B, Wacheck S, Stolle A, Fredriksson-Ahomaa M. Epidemiological data on pathogenic *Yersinia enterocolitica* in Southern Germany during 2000-2006. Foodborne Pathog Dis 2008, 5: 273-280.

Burnens A, Angelozwick B, Nicolet J. Comparison of *Campylobacter* carriage rates in diarrheic and healthy pet animals. J Vet Med Ser B-Zent bl Vet Med Reihe B-Infect Dis Vet Public 1992, 39: 175-180.

Burnens A, Frey A, Nicolet J. Association between clinical presentation, biogroups and virulence attributes of *Yersinia enterocolitica* strains in human diarrhoeal disease. Epidemiol Infect 1996, 116: 27-34.

Canadian Veterinary Medical Association (CVMA 2018). Raw meat-based diets for pets - position statement.

<https://www.canadianveterinarians.net/documents/raw-meat-based-diets-for-pets>, haettu 17.1.2019.

Castro V, Tavares Carvalho R, Conte-Junior C, Souza Figuiere E. Shiga-toxin producing *Escherichia coli*: pathogenicity, supershedding, diagnostic methods, occurrence, and foodborne outbreaks. *Compr Rev Food Sci Food Saf* 2017, 16: 1269-1280.

Chengappa M, Staats J, Oberst R, Gabbert N, Mcvey S. Prevalence of *Salmonella* in Raw Meat used in Diets of Racing Greyhounds. *J Vet Diagn Invest* 1993, 5: 372-377.

Cherry B, Burns A, Johnson G, Pfeiffer H, Dumas N, Barrett D, McDonough P, Eidson M. *Salmonella* Typhimurium outbreak associated with veterinary clinic. *Emerg Infect Dis* 2004, 10: 2249-2251.

Cima G. (Cima 2012). AAHA warns about raw pet diet risks.

<https://www.avma.org/News/IAVMANews/Pages/121015l.aspx>, haettu 17.1.2019, päivitetty 15.10.2012.

Clark C, Cunningham J, Ahmed R, Woodward D, Fonseca K, Isaacs S, Ellis A, Anand C, Ziebell K, Muckle A, Sockett P, Rodgers F. Characterization of *Salmonella* associated with pig ear dog treats in Canada. *J Clin Microbiol* 2001, 39: 3962-3968.

Cogan T, Bloomfield S, Humphrey T. The effectiveness of hygiene procedures for prevention of cross-contamination from chicken carcasses in the domestic kitchen. *Lett Appl Microbiol* 1999, 29: 354-358.

Cogan T, Slader J, Bloomfield S, Humphrey T. Achieving hygiene in the domestic kitchen: the effectiveness of commonly used cleaning procedures. *J Appl Microbiol* 2002, 92: 885-892.

Collins D, Huey R, Kennedy G, Lee R, Loughney C, Taylor M. Food poisoning and meat microbiology. Teoksessa: Collins,D, Huey,R (toim.) *Gracey's meat hygiene*. 11 p. John Wiley & Sons Inc, West Sussex, UK 2015: 259-278.

Crump J, Sulka A, Langer A, Schaben C, Crielly A, Gage R, Baysinger M, Moll M, Withers G, Toney D, Hunter S, Hoekstra R, Wong S, Griffin P, Van Gilder T. An outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections among visitors to a dairy farm. *N Engl J Med* 2002, 347: 555-560.

Dasti J, Tareen A, Lugert R, Zautner A, Gross U. *Campylobacter jejuni*: A brief overview on pathogenicity-associated factors and disease-mediating mechanisms. *Int J Med Microbiol* 2010, 300: 205-211.

Delorme J, Laverdiere M, Martineau B, Lafleur L. Yersiniosis in children. *Can Med Assoc J* 1974, 110: 281-284.

Doorduyn Y, Van den Brandhof W, Van Duynhoven Y, Breukink B, Wagenaar J, Van Pelt W. Risk factors for indigenous *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* infections in The Netherlands: a case-control study. *Epidemiol Infect* 2010, 138: 1391-1404.

Elintarviketurvallisuusvirasto (Evira 2016). Risk assessment of *Campylobacter* spp. in Finland. https://www.ruokavirasto.fi/globalassets/tietoa-meista/julkaisut/julkaisusarjat/tutkimukset/riskiraportit/risk-assessment-of-campylobacter-spp_2_2016.pdf, haettu 13.4.2019.

Elliott E, Robins-Browne R, O'Loughlin E, Bennett-Wood V, Bourke J, Henning P, Hogg G, Knight J, Powell H, Redmond D. Nationwide study of haemolytic uraemic syndrome: clinical, microbiological, and epidemiological features. *Arch Dis Child* 2001, 85: 125-131.

Euroopan parlamentin ja neuvoston asetus (EY) N:o 1069/2009, muiden kuin ihmisravinnoksi tarkoitettujen eläimistä saatavien sivutuotteiden ja niistä johdettujen tuotteiden terveyssäännöistä sekä asetuksen (EY) N:o 1774/2002 kumoamisesta (sivutuoteasetus). Euroopan unionin virallinen lehti L 300, 14.11.2009: 1-33. <https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2004/854/oj>, haettu 27.3.2019.

Euroopan parlamentin ja neuvoston asetus (EY) N:o 853/2004 eläinperäisiä elintarvikkeita koskevista erityisistä hygieniasäännöistä. Euroopan unionin virallinen lehti, L 139, 30.4.2004: 55-205. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FI/TXT/?uri=celex:32004R0853>, haettu 5.2.2019.

Euroopan parlamentin ja neuvoston asetus (EY) N:o 854/2004, ihmisravinnoksi tarkoitettujen eläinperäisten tuotteiden virallisen valvonnan järjestämistä koskevista erityissäännöistä. Euroopan unionin virallinen lehti L 139, 30.4.2004: 206-320. <https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2004/854/oj>, haettu 7.3.2019.

European Food Safety Authority (EFSA 2016). Finland: Trends and sources of zoonoses and zoonotic agents in foodstuffs, animals and feedingstuffs in 2016. https://www.ruokavirasto.fi/globalassets/teemat/zoonoosikeskus/zoonoosit/raport_finland_2016.pdf, haettu 5.2.2019.

European Food Safety Authority (EFSA 2018a). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2017. <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/5500>, haettu 15.1.2019, päivitetty 12.12.2018.

European Food Safety Authority (EFSA 2018b). The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2016. <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/5182>, haettu 10.3.2019, päivitetty 2.2.2018.

- Fauth E, Freeman L, Cornjeo L, Markovich J, Janecko N, Weese J. Salmonella bacteriuria in a cat fed a *Salmonella*-contaminated diet. J Am Vet Med Assoc 2015, 247: 525-530.
- Finley R, Reid-Smith R, Weese J. Human health implications of *Salmonella*-contaminated natural pet treats and raw pet food. Clin Infect Dis 2006, 42: 686-691.
- Finley R, Ribble C, Aramini J, Vandermeer M, Popa M, Litman M, Reid-Smith R. The risk of *Salmonellae* shedding by dogs fed *Salmonella*-contaminated commercial raw food diets. Can Vet J 2007, 48: 69-75.
- Fox J, Greene G. Enteric Bacterial Infections. Teoksessa: Greene, G (toim.) Infectious diseases of the dog and cat. 4th edition p. Elsevier/Saunders, St. Louis 2011: 370-390.
- Fredriksson-Ahomaa M. Yersinia enterocolitica. Teoksessa: Dodd, C, Aldsworth, T, Stein, R, Cliver, D, Riemann, H (toim.) Foodborne Diseases. 3 p. Academic Press, San Diego 2017: 223-234.
- Fredriksson-Ahomaa M. Enteropathogenic Yersinia spp. Teoksessa: Sing, A (toim.) Zoonoses-Infections affecting humans and animals. Springer, Dordrecht 2015: 213-234.
- Fredriksson-Ahomaa M, Korte T, Korkeala H. Transmission of *Yersinia enterocolitica* 4/O:3 to pets via contaminated pork. Lett Appl Microbiol 2001, 32: 375-378.
- Fredriksson-Ahomaa M, Stolle A, Siitonen A, Korkeala H. Sporadic human *Yersinia enterocolitica* infections caused by bioserotype 4/O : 3 originate mainly from pigs. J Med Microbiol 2006, 55: 747-749.
- Freeman L, Chandler M, Hamper B, Weeth L. Current knowledge about the risks and benefits of raw meat-based diets for dogs and cats. J Am Vet Med Assoc 2013a, 243: 1549-1558.
- Freeman L, Janecko N, Weese J. Nutritional and microbial analysis of bully sticks and survey of opinions about pet treats. Can Vet J -Rev Vet Can 2013b, 54: 50-54.
- Freeman L, Michel K. Evaluation of raw food diets for dogs. J Am Vet Med Assoc 2001, 218: 705-709.
- Frowde P, Battersby I, Whitley N, Elwood C. Oesophageal disease in 33 cats. J Feline Med Surg 2011, 13: 564-569.
- Gajadhar A, Aramini J, Tiffin G, Bisailon J. Prevalence of *Toxoplasma gondii* in Canadian market-age pigs. J Parasitol 1998, 84: 759-763.

Garcia Rodriguez L, Ruigomez A, Panes J. Acute gastroenteritis is followed by an increased risk of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2006, 130: 1588-1594.

Gaudreau C, Lamothe F. *Campylobacter upsaliensis* isolated from a breast abscess. *J Clin Microbiol* 1992, 30: 1354-1356.

Gurgan T, Diker K. Abortion associated with *Campylobacter upsaliensis*. *J Clin Microbiol* 1994, 32: 3093-3094.

Hakkinen M, Heiska H, Hanninen M. Prevalence of *Campylobacter* spp. in cattle in Finland and antimicrobial susceptibilities of bovine *Campylobacter jejuni* strains. *Appl Environ Microbiol* 2007, 73: 3232-3238.

Hald B, Madsen M. Healthy puppies and kittens as carriers of *Campylobacter* spp., with special reference to *Campylobacter upsaliensis*. *J Clin Microbiol* 1997, 35: 3351-3352.

Han T, Paik I, Kim S. Molecular relatedness between isolates *Yersinia pseudotuberculosis* from a patient and an isolate from mountain spring water. *J Korean Med Sci* 2003, 18: 425-428.

Hannu T, Mattila L, Nuorti J, Ruutu P, Mikkola J, Siitonen A, Leirisalo-Repo M. Reactive arthritis after an outbreak of *Yersinia pseudotuberculosis* serotype O : 3 infection. *Ann Rheum Dis* 2003, 62: 866-869.

Hayashidani H, Kaneko K, Sakurai K, Ogawa M. Experimental infection with *Yersinia enterocolitica* serovar O8 in beagle dogs. *Vet Microbiol* 1995, 47: 71-77.

Hellgren J, Hasto L, Wikstrom C, Fernstrom L, Hansson I. Occurrence of *Salmonella*, *Campylobacter*, *Clostridium* and *Enterobacteriaceae* in raw meat-based diets for dogs. *Vet Rec* 2019, 184: 442-449.

Huang H, Brooks B, Lowman R, Carrillo C. *Campylobacter* species in animal, food, and environmental sources, and relevant testing programs in Canada. *Can J Microbiol* 2015, 61: 701-721.

Humphrey T, O'Brien S, Madsen M. *Campylobacters* as zoonotic pathogens: A food production perspective. *Int J Food Microbiol* 2007, 117: 237-257.

Jalava K, Hakkinen M, Valkonen M, Nakari U, Palo T, Hallanvuori S, Ollgren J, Siitonen A, Nuorti J. An outbreak of gastrointestinal illness and erythema nodosum from grated carrots contaminated with *Yersinia pseudotuberculosis*. *J Infect Dis* 2006, 194: 1209-1216.

Kaakoush N, Castano-Rodriguez N, Mitchell H, Man S. Global epidemiology of *Campylobacter* infection. *Clin Microbiol Rev* 2015, 28: 687-720.

Kageyama T, Ogasawara A, Fukuhara R, Narita Y, Miwa N, Kamanaka Y, Abe M, Kumazaki K, Maeda N, Suzuki J, Gotoh S, Matsubayashi K, Hashimoto C, Kato A, Matsubayashi N. *Yersinia pseudotuberculosis* infection in breeding monkeys: detection and analysis of strain diversity by PCR. J Med Primatol 2002, 31: 129-135.

Kaper J, Nataro J, Mobley H. Diarrheagenic *Escherichia coli*. Clin Microbiol Rev 1998, 11: 123-140.

Keene W, Hedberg K, Herriott D, Hancock D, McKay R, Barrett T, Fleming D. Prolonged outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections caused by commercially distributed raw milk. J Infect Dis 1997, 176: 815-818.

Keene W, McAnulty J, Hoesly F, Williams L, Hedberg K, Oxman G, Barrett T, Pfaller M, Fleming D. A swimming-associated outbreak of hemorrhagic colitis caused by *Escherichia coli* O157:H7 and *Shigella sonnei*. N Engl J Med 1994, 331: 579-584.

Koenig A. Gram-negative bacterial infections. Teoksessa: Greene, G (toim.) Infectious diseases of the dog and cat. 4th edition p. Elsevier/Saunders, St. Louis 2011: 349-359.

Komission täytäntöönpanoasetus (EU) 2015/1375 virallisia lihan trikiinitarkastuksia koskevista erityissäännöistä (ETA:n kannalta merkityksellinen teksti) Euroopan unionin virallinen lehti L 212, 11.8.2015: 7-34. https://eur-lex.europa.eu/eli/reg_impl/2015/1375/oj, haettu 7.3.2019.

Koo J, Park S, Choi S, Chang C, Cho C, Paik I, Chung C. Acute renal failure associated with *Yersinia pseudotuberculosis* infection in children. Pediatr Nephrol 1996, 10: 582-586.

Lääkärikirja Duodecim (Duodecim 2012a). Kyhmyruusu (erythema nodosum). https://www.terveyskirjasto.fi/kotisivut/tk.koti?p_artikkeli=dlk00064, haettu 21.2.2019, päivitetty 20.10.2019.

Lääkärikirja Duodecim (Duodecim 2018). Yersinia-infektiot (yersinioosi ja rutto). https://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=dlk00616, haettu 19.2.2019, päivitetty 5.10.2018.

Lääkärikirja Duodecim (Duodecim 2019). Polyradikuliitti eli hermojuuritulehdus (Guillain-Barrén oireyhtymä). https://www.terveyskirjasto.fi/kotisivut/tk.koti?p_artikkeli=dlk01094, haettu 11.4.2019, päivitetty 17.2.2019.

Läketieteellinen aikakauskirja Duodecim (Duodecim 2012b). Mikrobin aiheuttamat ripulitaudit. <https://www.duodecimlehti.fi/duo10102>, haettu 5.2.2019.

Laflamme D, Abood S, Fascetti A, Fleeman L, Freeman L, Michel K, Bauer C, Kemp B, Van Doren J, Willoughby K. Timely topics in nutrition - Pet feeding practices of dog

and cat owners in the United States and Australia. JAVMA-J Am Vet Med Assoc 2008, 232: 687-694.

Leblanc-Maridor M, Beaudeau F, Seegers H, Denis M, Belloc C. Rapid identification and quantification of *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni* by real-time PCR in pure cultures and in complex samples. BMC Microbiol 2011, 11: 113.

Lee L, Gerger A, Lonsway D, Smith J, Carter G, Puhf N, Parrish C, Sikes R, Finton R, Tauxe R. *Yersinia enterocolitica* O3 infections in infants and children, associated with the household preparation of chitterlings. N Engl J Med 1990, 322: 984-987.

Lefebvre S, Reid-Smith R, Boerlin P, Weese J. Evaluation of the risks of shedding *Salmonellae* and other potential pathogens by therapy dogs fed raw diets in Ontario and Alberta. Zoonoses Public Health 2008, 55: 470-480.

Lenox C, Becvarova I, Archipow W. Metabolic bone disease and central retinal degeneration in a kitten due to nutritional inadequacy of an all-meat raw diet. JFMS open reports 2015, 1: 1-5.

Leonard E, Pearl D, Finley R, Janecko N, Peregrine A, Reid-Smith R, Weese J. Evaluation of pet-related management factors and the risk of *Salmonella* spp. carriage in pet dogs from volunteer households in Ontario (2005-2006). Zoonoses Public Health 2011, 58: 140-149.

Lund M, Nordentoft S, Pedersen K, Madsen M. Detection of *Campylobacter* spp. in chicken fecal samples by real-time PCR. J Clin Microbiol 2004, 42: 5125-5132.

Malorny B, Paccassoni E, Fach P, Bunge C, Martin A, Helmuth R. Diagnostic real-time PCR for detection of *Salmonella* in food. Appl Environ Microbiol 2004, 70: 7046-7052.

Martinez-Anton L, Marenda M, Firestone S, Bushell R, Child G, Hamilton A, Long S, Le Chevoir M. Investigation of the role of *Campylobacter* infection in suspected acute polyradiculoneuritis in dogs. J Vet Intern Med 2018, 32: 352-360.

Moore J, Corcoran D, Dooley J, Fanning S, Lucey B, Matsuda M, McDowell D, Mégraud F, Millar BC, O'Mahony R, O'Riordan L, O'Rourke M, Rao J, Rooney P, Sails A, Whyte P. *Campylobacter*. Vet Res 2005, 36: 351-382.

Morita T, Awakura T, Shimada A, Umemura T, Nagai T, Haruna A. Vitamin D toxicosis in cats - natural outbreak and experimental study. J Vet Med Sci 1995, 57: 831-837.

Moxley R. *Enterobacteriaceae:Yersinia*. Teoksessa: Chengappa, MM, Kennedy, M, McVey, DS (toim.) Veterinary microbiology. 3 p. Wiley-Blackwell, Iowa, U.S.A. 2013: 85-94.

Nemser S, Doran T, Grabenstein M, McConnell T, McGrath T, Pamboukian R, Smith A, Achen M, Danzeisen G, Kim S, Liu Y, Robeson S, Rosario G, Wilson K,

Reimschuessel R. Investigation of *Listeria*, *Salmonella*, and toxigenic *Escherichia coli* in various pet foods. Foodborne Pathog Dis 2014, 11: 706-709.

Nietfeld J. Spiral-Curved Organisms III: *Campylobacter* and *Arcobacter*. Teoksessa: Chengappa, M, Kennedy, M, McVey, D (toim.) Veterinary microbiology. 3 p. Wiley-Blackwell, Iowa, U.S.A. 2013: 167-174.

Nuorti J, Niskanen T, Hallanvuori S, Mikkola J, Kela E, Hatakka M, Fredriksson-Ahomaa M, Lyytikäinen O, Siitonen A, Korkeala H, Ruutu P. A widespread outbreak of *Yersinia pseudotuberculosis* O : 3 infection from iceberg lettuce. J Infect Dis 2004, 189: 766-774.

Oporto B, Esteban J, Aduriz G, Juste R, Hurtado A. *Escherichia coli* O157 : H7 and non-O157 shiga toxin-producing *E. coli* in healthy cattle, sheep and swine herds in northern Spain. Zoonoses Public Health 2008, 55: 73-81.

Ostroff S, Kapperud G, Hutwagner L, Nesbakken T, Bean N, Lassen J, Tauxe R. Sources of sporadic *Yersinia enterocolitica* infections in Norway - a prospective case-control study. Epidemiol Infect 1994, 112: 133-141.

Owston M, Wu C, Ramos-Vara J. Hepatic yersiniosis in a cougar (*Felis concolor*). J Vet Diagn Invest 2006, 18: 511-513.

Paivarinta M, Pohjola L, Fredriksson-Ahomaa M, Heikinheimo A. Low occurrence of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in Finnish food-producing animals. Zoonoses Public Health 2016, 63: 624-631.

Parn T, Hallanvuori S, Salmenlinna S, Pihlajasaari A, Heikkinen S, Telkki-Nykanen H, Hakkinen M, Ollgren J, Huusko S, Rimhanen-Finne R. Outbreak of *Yersinia pseudotuberculosis* O:1 infection associated with raw milk consumption, Finland, spring 2014. Eurosurveill 2015, 20: 13-19.

Patton C, Shaffer N, Edmonds P, Barrett T, Lambert M, Baker C, Perlman D, Brenner D. Human-disease associated with *Campylobacter upsaliensis* (catalase-negative or weakly positive *Campylobacter* species) in the United-States. J Clin Microbiol 1989, 27: 66-73.

Pedrinelli V, Gomes M, Carciofi A. Analysis of recipes of home-prepared diets for dogs and cats published in Portuguese. J Nutr Sci 2017, 6: 1-5.

Poelzler T, Stueger H, Lassnig H. Prevalence of most common human pathogenic *Campylobacter* spp. in dogs and cats in Styria, Austria. Vet Med Sci 2018, 4: 115-125.

Pradel N, Livrelli V, De Champs C, Palcoux J, Reynaud A, Scheutz F, Sirot J, Joly B, Forestier C. Prevalence and characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from cattle, food, and children during a one-year prospective study in France. J Clin Microbiol 2000, 38: 1023-1031.

Queen E, Marks S, Farver T. Prevalence of selected bacterial and parasitic agents in feces from diarrheic and healthy control cats from Northern California. *J Vet Intern Med* 2012, 26: 54-60.

Quinn P, Markey B, Leonard F, Hartigan P, Fanning S, Fitzpatrick E. Section III: Pathogenic Bacteria. Teoksessa: Quinn, P, Markey, B, Leonard, F, Hartigan, P, Fanning, S, Fitzpatrick, E (toim.) *Veterinary Microbiology and Microbial Disease*. 2 p. Wiley-Blackwell, Chichester, West Sussex, UK 2011: 177-410.

Rice D, Hancock D, Roozen P, Szymanski M, Scheenstra B, Cady K, Besser T, Chudek P. Household contamination with *Salmonella enterica*. *Emerg Infect Dis* 2003, 9: 120-122.

Riley L, Remis R, Helgerson S, McGee H, Wells J, Davis B, Hebert R, Olcott E, Johnson L, Hargrett N, Blake P, Cohen M. Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. *N Engl J Med* 1983, 308: 681-685.

Rimhanen-Finne R, Niskanen T, Hallanvuori S, Makary P, Haukka K, Pajunen S, Siitonen A, Ristolainen R, Poyry H, Ollgren J, Kuusi M. *Yersinia pseudotuberculosis* causing a large outbreak associated with carrots in Finland, 2006. *Epidemiol Infect* 2009, 137: 342-347.

Rumi M, Irino K, Deza N, Huguet M, Bentancor A. First isolation in Argentina of a highly virulent Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O145:NM from a domestic cat. *J Infect Dev Ctries* 2012, 6: 358-363.

Ruokavirasto (Ruokavirasto 2014). Salmonella. Osoittaminen elintarvikkeista. https://www.ruokavirasto.fi/globalassets/laboratoriopalvelut/vertailulaboratorio-toiminta/ohjeita-laboratorioille/evira_3432_salmonella_osoit_rv.pdf, haettu 8.3.2019, päivitetty 3.9.2014.

Ruokavirasto (Ruokavirasto 2015). *Yersinia pseudotuberculosis* –bakteerin osoittaminen. https://www.ruokavirasto.fi/globalassets/laboratoriopalvelut/vertailulaboratorio-toiminta/ohjeita-laboratorioille/evira_3503_yersinia-pseudotu_rv.pdf, haettu 8.3.2019, päivitetty 4.12.2015.

Ruokavirasto (Ruokavirasto 2017). *Campylobacter jejuni/coli/lari* –bakteerien osoittaminen ja tunnistaminen. . https://www.ruokavirasto.fi/globalassets/laboratoriopalvelut/vertailulaboratorio-toiminta/ohjeita-laboratorioille/lab_3409_campylobakt_jejuni_coli_lari.pdf, haettu 8.3.2019, päivitetty 8.8.2017.

Ruokavirasto (Ruokavirasto 2018a). Koirien ja kissojen eläinperäinen raakaruoka. <https://www.ruokavirasto.fi/globalassets/tietoa-meista/asiointi/oppaat-ja-lomakkeet/yritykset/rehuala/ohjeet/koirien-ja-kissojen-raakaruoka-12834.pdf>, haettu 18.1.2019, päivitetty 1.2.2018.

- Ruokavirasto (Ruokavirasto 2018b). *Yersinia enterocolitica* -bakteerin osoittaminen elintarvikkeista.
https://www.ruokavirasto.fi/globalassets/laboratoriopalvelut/vertailulaboratorio-toiminta/ohjeita-laboratorioille/evira_3445_yersinia-enterocolitica_bakt_osoitt_elintarvikkeista_rv.pdf, haettu 8.3.2019, päivitetty 24.8.2018.
- Ruokavirasto (Ruokavirasto 2019a). Käsienpesu.
<https://www.ruokavirasto.fi/henkiloasiakkaat/tietoa-elintarvikkeista/kasittely-ja-sailyttaminen/kasienpesu/>, haettu 16.3.2019.
- Ruokavirasto (Ruokavirasto 2019b). Sivutuotteiden luokittelu.
<https://www.ruokavirasto.fi/yritykset/elainala/elaimista-saatavat-sivutuotteet/sivutuotteiden-luokittelu/>, haettu 27.3.2019.
- Sanchez S, Hofacre C, Lee M, Maurer J, Doyle M. Animal sources of salmonellosis in humans. J Am Vet Med Assoc 2002, 221: 492-497.
- Sandberg M, Bergsjö B, Hofshagen M, Skjerve E, Kruse H. Risk factors for *Campylobacter* infection in Norwegian cats and dogs. Prev Vet Med 2002, 55: 241-253.
- Sanderson K, Nair S. Taxonomy and Species Concepts in the Genus *Salmonella*. Teoksessa: Barrow, P, Methner, U (toim.) *Salmonella* in domestic animals. 2 p. CAB International, London, UK 2013: 1-19.
- Scanlon K, Cagney C, Walsh D, McNulty D, Carroll A, McNamara E, McDowell D, Duffy G. Occurrence and characteristics of fastidious *Campylobacteraceae* species in porcine samples. Int J Food Microbiol 2013, 163: 6-13.
- Sharma V, Dean-Nystrom E. Detection of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 : H7 by using a multiplex real-time PCR assay for genes encoding intimin and Shiga toxins. Vet Microbiol 2003, 93: 247-260.
- Shen Z, Feng Y, Dewhirst F, Fox J. Coinfection of enteric *Helicobacter* spp. and *Campylobacter* spp. in cats. J Clin Microbiol 2001, 39: 2166-2172.
- Sihvonen L, Haukka K, Kuusi M, Virtanen M, Siitonen A. *Yersinia enterocolitica* and *Y. enterocolitica*-like species in clinical stool specimens of humans: identification and prevalence of bio/serotypes in Finland. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2009, 28: 757-765.
- Smith J, Fratamico P. *Escherichia coli* as a Pathogen. Teoksessa: Dodd, C, Aldsworth, T, Stein, R, Cliver, D, Riemann, H (toim.) Foodborne Diseases. 3 p. Academic Press, San Diego 2017: 189-208.
- Smith K, Kruth S, Hammermueller J, Gyles C, Wilson J. A case-control study of verocytotoxigenic *Escherichia coli* infection in cats with diarrhea. Can J Vet Res - Rev Can Rech Vet 1998, 62: 87-92.

- Sodervik H, Syrjala H, Raisanen S. Interstitial pneumonia and sepsis caused by *Yersinia enterocolitica* serotype O3. Scand J Infect Dis 1986, 18: 241-243.
- Spain C, Scarlett J, Wade S, McDonough P. Prevalence of enteric zoonotic agents in cats less than 1 year old in central New York State. J Vet Intern Med 2001, 15: 33-38.
- Spearman J, Hunt P, Nayar P. *Yersinia pseudotuberculosis* infection in a cat. Can Vet J -Rev Vet Can 1979, 20: 361-364.
- Spira T, Kabins S. *Yersinia enterocolitica* septicemia with septic arthritis. Arch Intern Med 1976, 136: 1305-1308.
- Statens veterinärmedicinska anstalt (SVA 2019). *Salmonella* hos katt. <https://www.sva.se/djurhalsa/katt/infektionssjukdomar-katt/salmonella-katt>, haettu 5.3.2019, päivitetty 31.1.2019.
- Stenhouse M, Milner L. *Yersinia enterocolitica* - a hazard in blood-transfusion. Transfusion 1982, 22: 396-398.
- Stiver S, Frazier K, Mauel M, Styer E. Septicemic salmonellosis in two cats fed a raw-meat diet. J Am Anim Hosp Assoc 2003, 39: 538-542.
- Studahl A, Andersson Y. Risk factors for indigenous *Campylobacter* infection: a Swedish case-control study. Epidemiol Infect 2000, 125: 269-275.
- Stull J, Brophy J, Weese J. Reducing the risk of pet-associated zoonotic infections. Can Med Assoc J 2015, 187: 736-743.
- Stull J, Peregrine A, Sargeant J, Weese J. Pet husbandry and infection control practices related to zoonotic disease risks in Ontario, Canada. BMC Public Health 2013, 13: 520.
- Suomen Eläinlääkäriliitto ry (SELL 2018). Lemmikkien raakaruokinnan riskit kotitaloudessa. <https://www.sell.fi/uutinen/lemmikkien-raakaruokinnan-riskit-kotitaloudessa>, haettu 17.1.2019, päivitetty 28.11.2018.
- Swerdlow D, Woodruff B, Brady R, Griffin P, Tippet S, Donnell H, Geldreich E, Payne B, Meyer A, Wells J, Greene K, Bright M, Bean N, Blake P. A waterborne outbreak in Missouri of *Escherichia coli* O157:H7 associated with bloody diarrhea and death. Ann Intern Med 1992, 117: 812-819.
- Taylor E, Herman K, Ailes E, Fitzgerald C, Yoder J, Mahon B, Tauxe R. Common source outbreaks of *Campylobacter* infection in the USA, 1997-2008. Epidemiol Infect 2013, 141: 987-996.
- Terveystieteiden ja hyvinvoinnin laitos (THL 2018a). Tartuntatautirekisterin tilastotietokanta. <https://thl.fi/ttr/gen/rpt/tilastot.html>, haettu 15.1.2019.

Terveyden ja hyvinvoinnin laitos (THL 2018b). Tartuntataudit Suomessa 2017. <http://urn.fi/URN:ISBN:978-952-343-148-5>, haettu 16.1.2019, päivitetty 27.8.2018.

Thisted Lambertz S, Nilsson C, Hallanvuo S. TaqMan-based real-time PCR method for detection of ***Yersinia pseudotuberculosis*** in food. Appl Environ Microbiol 2008a, 74: 6465-6469.

Thisted Lambertz S, Nilsson C, Hallanvuo S, Lindblad M. Real-time PCR method for detection of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in food. Appl Environ Microbiol 2008b, 74: 6060-6067.

Tilden J, Young W, McNamara A, Custer C, Boesel B, LambertFair M, Majkowski J, Vugia D, Werner S, Hollingsworth J, Morris J. A new route of transmission for *Escherichia coli*: Infection from dry fermented salami. Am J Public Health 1996, 86: 1142-1145.

Torkan S, Vazirian B, Khamesipour F, Dida G. Prevalence of thermotolerant *Campylobacter* species in dogs and cats in Iran. Vet Med Sci 2018, 4: 296-303.

U.S. Food and Drug Administration (FDA 2018a). Avoid the Dangers of Raw Pet Food. <https://www.fda.gov/animalveterinary/resourcesforyou/animalhealthliteracy/ucm368730.htm>, haettu 17.1.2019, päivitetty 22.2.2018.

U.S. Food and Drug Administration (FDA 2018b). *Salmonella* and Turtle Safety. <https://www.fda.gov/AnimalVeterinary/GuidanceComplianceEnforcement/ucm090573.htm>, haettu 5.2.2019, päivitetty 20.8.2018.

van Bree F, Bokken G, Mineur R, Franssen F, Opsteegh M, van der Giessen J, Lipman L, Overgaauw P. Zoonotic bacteria and parasites found in raw meat-based diets for cats and dogs. Vet Rec 2018, 182: 1-7.

Vantrappen G, Ponette E, Geboes K, Bertrand P. *Yersinia enteritis* and enterocolitis - gastroenterological aspects. Gastroenterol 1977, 72: 220-227.

Weese J, Rousseau J. Survival of *Salmonella* Copenhagen in food bowls following contamination with experimentally inoculated raw meat: effects of time, cleaning, and disinfection. Can Vet J 2006, 47: 887-889.

Wieland B, Regula G, Danuser J, Wittwer M, Burnens A, Wassenaar T, Stark K. *Campylobacter* spp. in dogs and cats in Switzerland: Risk factor analysis and molecular characterization with AFLP. J Vet Med Ser B-Infect Dis Vet Public Health 2005, 52: 183-189.

Wolfs T, Duim B, Geelen S, Rigter A, Thomson-Carter F, Fleer A, Wagenaar J. Neonatal sepsis by *Campylobacter jejuni*: Genetically proven transmission from a household puppy. Clin Infect Dis 2001, 32: 97-99.

Workman S, Mathison G, Lavoie M. Pet dogs and chicken meat as reservoirs of *Campylobacter* spp. in Barbados. J Clin Microbiol 2005, 43: 2642-2650.

World Health Organisation (WHO 2018a). WHO Fact sheet *Salmonella* (non-typhoidal). [https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-\(non-typhoidal\)](https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal)), haettu 31.1.2019, päivitetty 20.2.2018.

World Health Organisation (WHO 2018b). Taeniasis/cysticercosis. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/taeniasis-cysticercosis>, haettu 7.3.2019, päivitetty 15.2.2018.

Wright J, Tengelsen L, Smith K, Bender J, Frank R, Grendon J, Rice D, Thiessen A, Gilbertson C, Sivapalasingam S, Barrett T, Besser T, Hancock D, Angulo F. Multidrug-resistant *Salmonella* Typhimurium in four animal facilities. Emerg Infect Dis 2005, 11: 1235-1241.

Yanagawa Y, Maruyama T, Sakai S. Isolation of *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis* from apparently healthy dogs and cats. Microbiol Immunol 1978, 22: 643-646.